Fisheries and Oceans Canada | Pêches et Océans Canada
Ecosystems and Oceans Science | Sciences des écosystèmes et des océans

Secrétariat canadien de consultation scientifique (SCCS)

Document de recherche 2018/049

Région de la capitale nationale

Évaluation du risque environnemental pour le tétra GloFish^{MD} Electric Green^{MD} et le tétra à longues nageoires GloFish^{MD} Electric Green^{MD} : des poissons d'ornement transgéniques importés au Canada pour le commerce des animaux domestiques

R. Leggatt, N. Johnson, et C. McGowan

Pêches et Océans Canada

Division des sciences de l'aquaculture, de la biotechnologie et de la santé des animaux aquatiques

200, rue Kent

Ottawa (Ontario) K1A 0E6

Août 2018

Canada

Avant-propos

La présente série documente les fondements scientifiques des évaluations des ressources et des écosystèmes aquatiques du Canada. Elle traite des problèmes courants selon les échéanciers dictés. Les documents qu'elle contient ne doivent pas être considérés comme des énoncés définitifs sur les sujets traités, mais plutôt comme des rapports d'étape sur les études en cours.

Publié par :

Pêches et Océans Canada
Secrétariat canadien de consultation scientifique
200, rue Kent
Ottawa (ON) K1A 0E6

http://www.dfo-mpo.gc.ca/csas-sccs/
csas-sccs@dfo-mpo.gc.ca

© Sa Majesté la Reine du chef du Canada, 2018
ISSN 2292-4272

La présente publication doit être citée comme suit :

Leggatt, R. Johnson, N. et McGowan, C. 2018. Évaluation du risque environnemental pour le tétra GloFish[MD] Electric Green[MD] et le tétra à longues nageoires GloFish[MD] Electric Green[MD] : des poissons d'ornement transgéniques importés au Canada pour le commerce des animaux domestiques. Secr. can. de consult. du MPO. Avis. de rech. 2018/049. xiv + 61 p.

Also available in English :

Leggatt, R. Johnson, N., and McGowan, C. 2018. Environmental Risk Assessment of the Glofish® Electric Green® Tetra and the Glofish® Long-Fin Electric Green® Tetra: Transgenic Ornamental Fish, Imported to Canada, For Sale in the Pet Trade. DFO Can. Sci. Advis. Sec. Res. Doc. 2018/049. xii + 54 p.

RÉSUMÉ

CONTEXTE

Le 5 juillet 2017, une déclaration a été soumise par GloFish LLC à Environnement et Changement climatique Canada (ECCC) en vertu du *Règlement sur les renseignements concernant les substances nouvelles (organismes)* [RRSN(O)] de la *Loi canadienne sur la protection de l'environnement* (1999) [LCPE 1999] pour le tétra GloFish[MD] Electric Green[MD] (CGT2016), tétra fluorescent génétiquement conçu (*Gymnocorymbus ternetzi*), soit un poisson d'ornement destiné aux aquariums de particuliers.

Les dispositions relatives à la biotechnologie de la LCPE adoptent une approche préventive en matière de la pollution, en exigeant de déclarer et d'évaluer tous les nouveaux organismes vivants issus de la biotechnologie, y compris les poissons génétiquement conçus, avant qu'ils soient produits ou importés au Canada, afin de déterminer s'ils sont « toxiques » ou s'ils peuvent le devenir. En vertu de la LCPE, un organisme est considéré comme toxique s'il pénètre ou peut pénétrer dans l'environnement en quantité ou en concentration suffisante pour ou dans des conditions de nature à : a) avoir, immédiatement ou à long terme, un effet nocif sur l'environnement ou sur la diversité biologique; b) mettre en danger ou pouvoir mettre en danger l'environnement essentiel pour la vie; ou c) constituer ou pouvoir constituer un danger au Canada pour la vie ou la santé humaines. Toute personne proposant d'importer ou de produire un produit animal vivant issu de la biotechnologie au Canada, y compris un poisson génétiquement conçu, doit fournir à ECCC les renseignements indiqués dans le RRSN(O) au moins 120 jours avant le début de l'importation ou de la production de l'organisme en question. Ces renseignements sont utilisés pour réaliser une évaluation du risque environnemental et une évaluation des répercussions indirectes sur la santé humaine (risque à la santé humaine si l'environnement est exposé à l'organisme) qui servent ensuite à déterminer si l'organisme est toxique ou peut le devenir au sens de la LCPE.

En vertu d'un protocole d'entente (PE) avec ECCC et Santé Canada (SC), pour les produits du poisson issus de la biotechnologie et relevant du RRSN(O), le MPO fournit un avis scientifique sous la forme d'une évaluation du risque environnemental. Cet avis appuie l'évaluation du risque réalisée par ECCC et SC en vertu de la LCPE. Conformément à cette entente, le ministre d'ECCC reçoit un avis scientifique du MPO et a la responsabilité de prendre la décision réglementaire définitive en ce qui concerne l'utilisation du poisson déclaré.

C'est dans ce contexte que le MPO a réalisé une évaluation du risque environnemental posé par l'organisme déclaré (CGT2016) en fonction de son utilisation proposée, laquelle a été examinée par les pairs (comité d'experts). Le **risque** est défini comme une fonction du potentiel que les environnements canadiens soient **exposés** à l'organisme déclaré et du potentiel que l'organisme déclaré représente un **danger** pour l'environnement canadien. L'évaluation de l'exposition et celle des dangers sont réalisées séparément, puis intégrées à l'évaluation du risque. L'incertitude liée à l'évaluation de l'exposition et celle liée à l'évaluation des dangers sont déterminées et l'incertitude associée à l'évaluation du risque finale est analysée.

L'ORGANISME DÉCLARÉ

Le CGT2016 est une lignée de tétras transgéniques vert fluorescent diploïdes, homozygotes ou hémizygotes, à nageoires longues ou régulières descendant de la variété blanche du tétra noir (*G. ternetzi*) et elle est dotée de transgènes qui entraînent l'expression d'une protéine vert fluorescent. L'expression du transgène entraîne une coloration verte s'il est exposé à la lumière ambiante et une coloration vert fluorescent s'il est exposé à une lumière bleue ou ultraviolette. Les effets de la protéine s'expriment dans la peau, la musculature, les nageoires, les yeux et probablement dans certains organes de l'organisme. Tous les poissons ayant reçu ce gène sont les descendants d'un seul organisme en phase G0, le transgène ayant été micro-injecté lorsque l'organisme ne formait qu'une seule cellule. L'observation de la génération F3 a permis de confirmer qu'une seule copie du transgène a été insérée dans un site d'insertion unique et que la loi de ségrégation de Mendel est respectée. Depuis 2012, le CGT2016 se vend aux États-Unis comme poisson d'ornement d'aquarium sous le nom de tétra GloFish^{MD} Electric Green^{MD} et de tétra à longues nageoires GloFish^{MD} Electric Green^{MD}. La modification phénotypique visée est la présence de vert ou de vert fluorescent pour introduire une variante d'une nouvelle couleur pour le commerce d'espèces d'ornement destinées aux aquariums. La compagnie a indiqué, comme modifications phénotypiques imprévues, une légère baisse de la tolérance au froid lorsque la température descend rapidement (c.-à-d. que la LD_{50} moyenne pour le CGT2016 est de 8,11 °C par rapport à 7,94 °C pour son équivalent sauvage). En outre, la capacité reproductive du CGT2016 a diminué de plus de 40 % par rapport à son équivalent sauvage, mais la capacité de survie des juvéniles n'a pas été affectée. Aucune autre modification phénotypique non ciblée n'a été remarquée pour le CGT2016.

ÉVALUATION DU RISQUE ENVIRONNEMENTAL

L'évaluation du risque environnemental est réalisée en fonction du scénario proposé par GloFish LLC, soit l'importation du CGT2016 au Canada par quatre grossistes-détaillants du commerce d'espèces d'ornement destinées aux aquariums, les tétras étant ensuite distribués à des magasins de vente au détail de tout le pays pour être achetés par des particuliers pour leurs aquariums.

Exposition

Il est prévu que le CGT2016 soit confiné dans des aquariums fixes à l'intérieur de bâtiments de grossistes-détaillants, de magasins et de maisons de consommateurs. En fonction des dossiers de l'historique sur les poissons d'aquarium introduits dans des écosystèmes naturels canadiens et du monde entier, il est très probable que le CGT2016 soit introduit volontairement ou par inadvertance dans les écosystèmes d'eau douce du Canada. En fonction des prévisions du nombre de CGT2016 achetés par des consommateurs, il est prévu que de tels événements se produisent très rarement (p. ex., cinq fois ou moins), bien qu'il ne soit pas possible d'écarter la possibilité qu'un plus grand nombre soit introduit dans les écosystèmes. En fonction des limites de température et de la température préférée du *G. ternetzi* sauvage et des températures consignées pour tous les écosystèmes d'eau douce du Canada, le CGT2016 pourrait survivre dans de nombreux écosystèmes naturels du Canada pendant l'été et dans certains écosystèmes au cours de l'automne et du printemps. Toutefois, la tolérance inférieure aux

températures froides du CGT2016 et du *G. ternetzi* sauvage empêcherait ces poissons de survivre pendant l'hiver dans la plupart des écosystèmes d'eau douce canadiens. La température de certains lacs atteint un niveau suffisant pendant une courte période de l'été pour permettre la reproduction du CGT2016. Le cycle de vie du *G. ternetzi* est relativement long (dans des conditions idéales, le temps de maturation minimal est de quatre mois). Il ne peut donc y avoir qu'un seul cycle de reproduction avant qu'il ne meure en hiver. Au vu de l'analyse ci-dessus, la présence du CGT2016 dans l'environnement canadien devrait être rare, isolée, éphémère et ne représenter que peu d'individus. Par conséquent, la probabilité d'**exposition** de l'environnement canadien au CGT2016 est considérée comme **faible**. L'**incertitude** associée à cette estimation est **faible** étant donné la qualité des données sur la tolérance à la température du CGT2016 et des organismes similaires valides et des données recueillies sur les paramètres environnementaux du milieu récepteur canadien.

Danger

Le potentiel que le CGT2016 pose un danger pour l'environnement canadien a été examiné en fonction de la toxicité pour l'environnement (potentiel que le poisson soit toxique) en fonction d'une transmission horizontale de gènes (THG) et d'interactions avec d'autres organismes, ce qui comprend l'hybridation, la capacité d'être un vecteur de maladies et les répercussions sur le cycle biogéochimique, l'habitat et la biodiversité. Le *G. ternetzi* sauvage est un petit poisson non agressif dont le niveau d'activité devrait être limité en raison des faibles températures qui règnent la plupart du temps dans les eaux canadiennes. Il n'est pas connu comme un poisson vulnérable aux maladies préoccupantes au Canada et il n'a jamais présenté de caractère envahissant au Canada et ailleurs dans le monde, malgré son utilisation à grande échelle dans le secteur des espèces d'ornement destinées aux aquariums depuis plus de 65 ans. Il n'y aucun rapport indiquant que les effets phénotypiques du transgène peuvent rendre le potentiel de danger du CGT2016 supérieur à celui du *G. ternetzi* de type sauvage domestiqué, rien n'indique que la protéine fluorescente est toxique (c'est-à-dire qu'elle n'est pas toxique pour les organismes et l'environnement) et rien ne prouve qu'une transmission de gènes potentielle nuirait à l'environnement canadien. Certaines preuves indiquent que les interactions trophiques du CGT2016 pourraient avoir moins de répercussions sur d'autres espèces que le *G. ternetzi* sauvage, car sa tolérance au froid inférieure peut limiter encore plus ses activités dans les eaux froides. Selon cet ensemble de données, le CGT2016 ne devrait poser qu'un **danger environnemental allant de négligeable à faible** s'il est introduit dans les écosystèmes aquatiques canadiens. Le niveau d'incertitude lié à chaque danger va de négligeable à modéré en raison du caractère limité des données propres au CGT2016 et des données directes sur les espèces comparables, de la variabilité des données concernant une espèce comparable (poisson zèbre à la protéine rouge fluorescente) et de la dépendance à l'égard de l'opinion des experts pour l'évaluation de certains dangers.

CONCLUSIONS SUR LE RISQUE

En fonction d'une matrice du risque intégrant le faible potentiel d'exposition et le potentiel de dangers qui va de négligeable à faible, le CGT2016 ne représente qu'un **risque faible** pour l'environnement canadien s'il est un poisson d'ornement d'aquarium. Alors que le niveau

d'incertitude associé à certains dangers est modéré en raison du caractère limité ou inexistant de données directes à propos de l'organisme déclaré ou d'une espèce comparable, aucune preuve ne semblait indiquer que le CGT2016, dans le cadre de l'utilisation proposée ou d'autres utilisations potentielles, pouvait nuire à l'environnement canadien en cas d'exposition.

TABLE DES MATIÈRES

RÉSUMÉ III
CONTEXTE III
L'ORGANISME DÉCLARÉ IV
ÉVALUATION DU RISQUE ENVIRONNEMENTAL IV
Exposition iv
Danger v
CONCLUSIONS SUR LE RISQUE V
TABLE DES MATIÈRES VII
LISTE DES FIGURES VIII
LISTE DES TABLEAUX IX
LISTE DES SIGLES IX
GLOSSAIRE XI
PARTIE 1 – DÉFINITION DU PROBLÈME 1
1.1 OBJET DE LA PARTIE 1 1
1.2 CADRE LÉGAL DE LA LCPE 1
1.3 PRISE DE DÉCISIONS RÉGLEMENTAIRES 3
1.4 CADRE D'ÉVALUATION DU RISQUE 4
1.4.1 Objectifs de protection 5
1.4.2 Paramètres d'évaluation 5
1.4.3 Paramètres de mesure 7
1.4.4 Incertitude 8
1.5 CHARACTÉRISATION DU CGT2016 9
1.5.1 Caractérisation moléculaire 10
1.5.2 Caractérisation du phénotype 11
1.5.3 Historique d'utilisation 16
1.6 CARACTÉRISATION DES ESPÈCES COMPARÉES 17
1.6.1 Taxonomie 18
1.6.2 Aire de répartition 18
1.6.3 Habitat 18
1.6.4 Tolérances physiologiques 19
1.7 CARACTÉRISATION DU MILIEU RÉCEPTEUR POTENTIEL 23
1.8 SOMMAIRE 27
PARTIE 2 : ÉVALUATION DU RISQUE ENVIRONNEMENTAL 28
2.1 OBJET DE LA PARTIE 2 28
2.2 ÉVALUATION DE L'EXPOSITION 28
2.2.1 Probabilité d'introduction 31
2.2.2 Probabilité de survie 31
2.2.3 Probabilité de reproduction 33

2.2.4 Probabilité de prolifération et dissémination 33
2.2.5 Conclusions 34
2.3 ÉVALUATION DES DANGERS 35
2.3.1 Dangers potentiels liés à la toxicité pour l'environnement 38
2.3.2 Dangers potentiels liés à la transmission horizontale de gènes 39
2.3.3 Dangers potentiels liés aux interactions avec d'autres organismes 41
2.3.4 Dangers potentiels liés à l'hybridation avec des espèces indigènes 44
2.3.5 Dangers potentiels en tant que vecteur de maladies 44
2.3.6 Dangers potentiels pour le cycle biogéochimique 46
2.3.7 Dangers potentiels pour l'habitat 46
2.3.8 Dangers potentiels pour la biodiversité 46
2.3.9 Conclusions 47
2.4 ÉVALUATION DU RISQUE 48
2.4.1 Évaluation du risque pour le CGT2016 49
2.5 RÉSUMÉ ET CONCLUSIONS 51
BIBLIOGRAPHIE 53

LISTE DES FIGURES

Figure 1.1 : Cadre de l'évaluation du risque du MPO pour les poissons génétiquement conçus déclarés en vertu de l'annexe 5 de la LCPE 6

Figure 1.2 : Exemple de Leggatt et al. (2010) simplifié et adapté pour illustrer une séquence potentielle des effets des poissons génétiquement conçus sur les composantes de l'écosystème canadien, ce qui, dans le cas présent, est la diversité des proies. Les commentaires à l'intérieur des zones de texte pointillées indiquent des facteurs pouvant influencer chacune des étapes de la séquence (ces étapes sont indiquées dans les autres zones de texte) 7

Figure 1.3 : Certaines variantes du Gymnocorymbus ternetzi disponibles dans le commerce du poisson d'ornement à l'échelle mondiale (a, b, d, e), et variantes transgéniques déclarées uniquement disponibles aux États-Unis (c, f). Tétras noirs sauvages (a, d), tétras blancs (b, e) et tétras CGT2016 Electric Green[MD] à nageoires normales ou longues, respectivement (c, f). Images de PetSmart (a, b), GloFish (c, f) et Segrest Farms (d, e) 10

Figure 1.4 : Exemple de répercussions du renouvellement sur la température d'un lac (National Geographic: Lake Turnover (renouvellement des eaux d'un lac)). 24

Figure 1.5 : Exemples de lacs canadiens a) Température d'eau relativement chaude en hiver (lac Cowichan, BCLSS 2014) b) Température d'eau chaude en été (lac Osoyoos, BCLSS 2013). ..... **Error! Bookmark not defined.**

Figure 1.6 : Nombre de rivières et de lacs du Canada étudiés atteignant diverses températures maximales pendant l'été (Leggatt and Devlin (2006)) 25

Figure 1.7 : Pourcentage de lacs et rivières étudiés dont la température minimale en hiver est à l'intérieur des diverses plages (Leggatt et al. (2018)). 26

Figure 2.1 : Voie d'exposition – La probabilité liée à chaque étape est limitée par la probabilité associée à l'étape précédente 29

Figure 2.2 : Survie et modifications du degré d'activité et de l'acte alimentaire du tétra blanc lorsque la température est abaissée de 1 °C par jour à partir de 20 °C. Figure tirée de la source Leggatt et al. (2018) et modifiée.....32

Figure 2.3 : Matrice des risques et échelle de couleur pour illustrer comment l'exposition et le danger sont intégrés pour établir un niveau de risque dans l'évaluation du risque environnemental Les évaluations du risque associées aux composantes de danger au niveau d'exposition évalué sont désignées par des chiffres : 1) risques liés à la toxicité pour l'environnement; 2) risques liés à la transmission horizontale de gènes; 3) risques liés aux interactions avec d'autres organismes; 4) risques liés à l'hybridation; 5) risques en tant que vecteur de maladie; 6) risques pour le cycle biogéochimique; 7) risques pour l'habitat; 8) risques pour la biodiversité.....50

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 2.1 : Niveaux d'exposition de l'environnement du Canada au CGT2016.....29

Tableau 2.2 : Classement du niveau d'incertitude associé à la probabilité de présence de l'organisme et à son devenir dans l'environnement canadien (exposition de l'environnement)..30

Tableau 2.3 : Classement du danger pour l'environnement découlant de son exposition à l'organisme 35

Tableau 2.4 : Classement du niveau d'incertitude associé au danger pour l'environnement.....38

Tableau 2.5 : Résumé du classement des dangers et du niveau d'incertitude connexe pour le CGT2016 dans l'environnement canadien 48

LISTE DES SIGLES

ADN : Acide désoxyribonucléique

ARN : Acide ribonucléique

ARNm : ARN messager

CGT2016 : Organisme déclaré, tétra génétiquement conçu de l'espèce *Gymnocorymbus ternetzi* doté d'une construction transgénique, soit une protéine fluorescente

E. T. : Erreur-type

ECCC : Environnement et Changement climatique Canada

Effet GE : Effet génotype-environnement

eGFP : Protéine verte fluorescente améliorée

GC : Génétiquement conçu

GFP : Protéine verte fluorescente, soit un type de protéine verte fluorescente spécifique

LCPE : *Loi canadienne sur la protection de l'environnement, 1999*

LD_{50} : Dose létale qui tue 50 % d'une population

MPO : Pêches et Océans Canada

NAc : Nouvelle activité

njaf : Nombre de jours après la fécondation

pb : Paire de bases

PE : Protocole d'entente

RFP : Protéine rouge fluorescente

RRSN(O) : *Règlement sur les renseignements concernant les substances nouvelles (organismes)*

SE : Séquences des effets

TCmin : Température minimale critique

TLCmin : Température létale chronique minimale

GLOSSAIRE

Abondance : Nombre total d'individus d'un taxon ou de taxons dans une zone, une communauté ou une population.

Aire de répartition : Étendue géographique d'un taxon ou d'un groupe; la disposition ou la répartition spatiale des individus d'une population ou d'un groupe.

Caractère envahissant : Propriété d'un organisme qui a été introduit dans un nouvel écosystème aquatique, qui s'y est établi et s'y est répandu et qui a eu des conséquences nuisibles sur les ressources naturelles de l'écosystème aquatique indigène ou l'utilisation humaine des ressources.

Commerce d'espèces destinées aux aquariums : Le secteur industriel qui vend légalement des organismes aquatiques à des clients.

Concurrence : Le besoin simultané de deux organismes ou espèces ou plus (concurrents) pour une ressource essentielle dont la quantité est limitée ou potentiellement limitée (concurrence par exploitation), ou une interaction nuisible entre deux organismes ou espèces ou plus ayant besoin d'une ressource commune non limitée (concurrence par interférence).

Cycle de vie : La séquence des événements, à partir des origines d'un zygote jusqu'à la mort d'un individu; les étapes par lesquelles un organisme passe entre la production de gamètes par une génération et la production de gamètes par la prochaine génération.

Danger : Potentiel de causer des effets nocifs.

Devenir : Le résultat final ou les résultats attendus d'un développement normal.

Dispersion : Déplacement d'un organisme dans son environnement; déplacement d'un organisme qui s'éloigne de son point d'introduction dans l'environnement.

Dissémination : Déplacement d'une population établie avec succès au-delà de son aire de répartition.

Diversité biologique : Selon la LCPE, la « diversité biologique » se définit comme la variabilité des organismes vivants de toute origine, y compris, sans limiter la généralité des éléments suivants : les écosystèmes terrestres, marins et les autres écosystèmes aquatiques ainsi que les complexes écologiques dont ils font partie, ce qui comprend la diversité au sein des espèces et entre espèces ainsi que celle des écosystèmes.

Diversité : Le nombre absolu d'espèces dans une communauté d'espèces, une communauté ou un échantillon; la richesse spécifique; une mesure du nombre d'espèces et de leur abondance relative à l'intérieur d'une communauté d'espèces, d'une communauté ou d'un échantillon; le fait d'être varié ou différent.

Écosystème : Selon la LCPE, un écosystème est « une dynamique complexe de communautés de végétaux, d'animaux et de microorganismes et de leur milieu non vivant interagissant comme une unité fonctionnelle ».

Effet nocif : Effet négatif immédiat ou à long terme sur la structure ou la fonction de l'écosystème, y compris la diversité biologique.

Effets génotype-environnement : La façon dont le génotype interagit avec l'environnement pour former le phénotype observé; les réactions morphologiques, physiologiques ou comportementales de deux génotypes ou plus en fonction des variations de l'environnement; plasticité.

Espèce clé : Espèce qui a des conséquences importantes disproportionnées sur la structure et la fonction de l'écosystème.

Espèce d'ornement : Tous les petits animaux aquatiques vivants de la classe des poissons qui sont des animaux domestiques ou utilisés à des fins décoratives.

Établie : Population autosuffisante qui grandit et se reproduit avec succès dans une région donnée.

Exposition : Probabilité qu'un organisme entre en contact avec des espèces ou des composantes environnementales vulnérables au Canada.

Facteurs abiotiques : Facteurs physiques, chimiques et facteurs environnementaux non biologiques.

Fluorescent : Substance absorbant la lumière associée à une longueur d'onde courte et qui émet de la lumière liée à une longueur d'onde plus longue.

Fréquence : Le nombre d'occurrences pour une caractéristique, une espèce ou un événement observé pour une série d'échantillons ou sur une période de temps.

Génétiquement conçu : Modification délibérée des caractéristiques d'un organisme en manipulant ses gènes de façon artificielle.

Habitat : La zone ou le type d'endroit où un individu ou une espèce sauvage se trouve dans la nature et dont il dépend directement ou indirectement pour la réalisation de ses processus de vie, ce qui comprend les caractéristiques biologiques, chimiques et physiques de l'environnement dont les organismes vivants ont besoin pour réaliser leurs processus et leur cycle de vie.

Hybridation : Tout croisement d'individus de composition génétique différente, ceux-ci faisant habituellement partie de souches ou d'espèces différentes.

Incertitude : Connaissances insuffisantes en ce qui concerne la vraie valeur d'un paramètre parce que celui-ci est aléatoire ou qu'il n'a pas été suffisamment étudié.

Introduction : Arrivée d'un nouvel organisme vivant qui est introduit dans l'environnement aquatique canadien ou qui migre au Canada.

Les sources utilisées pour les définitions de ce glossaire comprennent les documents suivants : Burgman 2005; Kapuscinski et al. 2007; Levin 2009; Lincoln et al. 1988; Mair et al. 2007; Moon et al. 2010.

Mésocosme : Milieu aquatique expérimental confiné où il y a un corps d'eau limité dont les conditions sont proches des conditions naturelles et où les facteurs environnementaux peuvent être modifiés de façon réaliste.

Organisme toxique au sens de la LCPE : Un organisme est considéré comme toxique s'il pénètre ou peut pénétrer dans l'environnement en quantité ou en concentration suffisante pour ou dans des conditions de nature à : a) avoir, immédiatement ou à long terme, un effet nocif sur l'environnement ou sur la diversité biologique; b) mettre en danger ou pouvoir mettre en danger l'environnement essentiel pour la vie; ou c) constituer ou pouvoir constituer un danger au Canada pour la vie ou la santé humaines.

Paramètre d'évaluation : Entités écologiques susceptibles de subir des effets nocifs en cas d'exposition à un agent de stress devant être protégées pour atteindre des objectifs de protection établis.

Paramètre de mesure : Une caractéristique mesurable du paramètre d'évaluation sélectionné.

Persister : Survivre jusqu'à l'étape de reproduction.

Prédateur : Organisme qui tue un autre organisme afin de consommer les ressources à l'intérieur de celui-ci.

Pression exercée par les prédateurs : Les effets de la prédation sur la dynamique de la population de proies.

Probabilité : Le degré de certitude en fonction de preuves; le degré de correspondance entre une proposition, un modèle ou une hypothèse et les données recueillies.

Production primaire : Assimilation de matière organique ou inorganique par des autotrophes (organismes qui peuvent convertir du carbone inorganique en matière organique et qui n'ont donc pas besoin d'ingérer ou d'absorber d'autres organismes vivants).

Productivité : Potentiel que de l'énergie ou de la matière organique soit absorbée ou générée par un individu, une population ou une unité trophique divisée par une unité de temps et une unité de superficie ou de volume; capacité ou fécondité organique pour une superficie ou un habit donné.

Proie : Tout animal pouvant être tué pour être consommé par un prédateur.

Risque : Probabilité qu'un effet nocif se produit en raison d'une exposition à un danger. Le risque intègre la nature et la gravité de l'effet nocif ainsi que la probabilité que celui-ci se réalise.

Sélection : Reproduction différentielle non aléatoire de différents génotypes d'une population réalisée avec succès.

Survie : Un organisme survit lorsque ses exigences physiologiques immédiates sont satisfaites.

Transgénique : Organisme doté de gènes dans lesquels l'ADN d'un organisme sans lien a été introduit de façon artificielle.

Transmission horizontale de gènes : Transfert de gènes entre des organismes d'une manière autre que la reproduction asexuelle ou sexuelle traditionnelle.

Variabilité : Propriété d'être variable à l'égard de la forme ou de la qualité.

Variable : Propriété relative aux variations discernables des valeurs de paramètre d'un échantillon.

PARTIE 1 – DÉFINITION DU PROBLÈME

1.1 OBJET DE LA PARTIE 1

La partie 1 de ce document définit le problème pour l'évaluation du risque environnemental réalisée en vertu de la LCPE pour le tétra GloFish[MD] Electric Green[MD] (CGT2016), variante blanche génétiquement conçue du tétra noir (*Gymnocorymbus ternetzi*) déclarée par GLoFish LLC en vertu du RRSN(O), ce poisson devant être utilisé dans le commerce d'espèces destinées aux aquariums.

La définition du problème permet de poser les fondements pour l'évaluation du risque en déterminant les objectifs de protection environnementale et la portée de l'étude. Il permet aussi de définir les objectifs de protection et les paramètres d'évaluation correspondant aux objectifs de protection légaux de la LCPE. En outre, dans le cadre la définition du problème, le CGT2016, les espèces de comparaison et le milieu récepteur potentiel canadien sont caractérisés.

Il est essentiel de définir précisément la portée et l'aspect principal des évaluations du risque réalisées en vertu de la LCPE dès le début afin qu'une évaluation du risque appropriée et défendable sur le plan scientifique puisse être menée à l'intérieur de la période de 120 jours définie par le RRSN(O) pour les avis mentionnés à l'annexe 5 (Renseignements exigés à l'égard des organismes autres que les micro-organismes). Pour de plus amples renseignements sur la LCPE et le RRSN(O), y compris les directives relatives au règlement, les indications détaillées sur l'information requise, l'obtention de dispenses, les nouvelles activités, les résultats des évaluations du risque et la gestion du risque, consulter la page sur la biotechnologie du site Web d'ECCC.

1.2 CADRE LÉGAL DE LA LCPE

La LCPE est une loi visant la prévention de la pollution et la protection de l'environnement et de la santé humaine en vue de contribuer au développement durable. Elle définit le « développement durable » comme un développement qui répond aux besoins de la génération actuelle sans compromettre la capacité des générations futures de répondre à leurs propres besoins.

Selon la LCPE, l'« environnement » est défini de façon générale comme les *composantes de la Terre*, ce qui comprend :

> *a) l'air, la terre et l'eau;*
> *b) toutes les couches de l'atmosphère;*
> *c) toutes les matières organiques et inorganiques ainsi que les organismes vivants;*
> *d) les systèmes naturels en interaction qui comprennent les composantes visées aux alinéas a) à c).*

Les dispositions relatives à la biotechnologie de la LCPE adoptent une approche préventive en matière de la pollution, en exigeant de déclarer et d'évaluer tous les nouveaux organismes vivants issus de la biotechnologie, y compris les poissons génétiquement conçus, avant qu'ils

soient produits ou importés au Canada, afin de déterminer s'ils sont « toxiques » ou s'ils peuvent le devenir.

En vertu de l'article 64 de la LCPE, un organisme est « toxique » lorsqu'il entre ou peut entrer dans l'environnement en quantité ou en concentration suffisante pour ou dans des conditions de nature à :

> *(a) avoir, immédiatement ou à long terme, un effet nocif sur l'environnement ou sur la diversité biologique;*
> *(b) mettre en danger ou pouvoir mettre en danger l'environnement essentiel pour la vie;*
> *(c) constituer ou pouvoir constituer un danger au Canada pour la vie ou la santé humaines.*

Toute personne proposant d'importer ou de produire un produit animal vivant issu de la biotechnologie au Canada, y compris un poisson génétiquement conçu, doit fournir à ECCC les renseignements indiqués à l'annexe 5 du RRSN(O) au moins 120 jours avant le début de l'importation ou de la production de l'organisme en question. Ces renseignements sont utilisés pour réaliser une évaluation du risque environnemental et une évaluation des répercussions indirectes sur la santé humaine (risque à la santé humaine si l'environnement est exposé à l'organisme) qui servent ensuite à déterminer si l'organisme est toxique ou peut le devenir au sens de la LCPE. Bien que l'annexe 5 puisse indiquer de mentionner une vaste gamme d'activités, il est possible de limiter l'évaluation du risque aux activités proposées de l'avis s'il n'y a suffisamment d'information pour considérer toutes les utilisations potentielles. Dans une telle situation, un avis de NAc est publié pour limiter les activités aux utilisations proposées ou aux utilisations considérées comme non toxiques et faire une demande d'information supplémentaire pour une évaluation du risque avant l'introduction des nouvelles utilisations. Le règlement ne s'applique pas aux organismes utilisés aux fins de recherche et développement à condition qu'ils respectent tous les critères de celui-ci et que l'organisme soit importé ou produit à partir d'installations desquelles l'organisme, le matériel génétique de l'organisme ou le matériel toxique de l'organisme ne peut s'échapper et s'introduire dans l'environnement.

Une dispense relative à une ou à plusieurs des exigences d'information requise figurant à l'annexe 5 du RRSN(O) peut être demandée par le requérant. En vertu du paragraphe 106(8), une dispense peut être accordée si (a) selon le ministre d'ECCC et le ministre de la Santé, l'information n'est pas requise pour déterminer si l'organisme vivant est toxique ou peut le devenir, si (b) l'organisme vivant est utilisé à des fins précises ou produit à un endroit où, selon les ministres, la personne faisant la demande est en mesure de confiner l'organisme vivant pour protéger l'environnement et la santé humaine de façon satisfaisante ou si (c) selon les ministres, il n'est pas possible d'obtenir les données d'essai nécessaires pour recueillir l'information. L'avis actuel ne mentionne aucune demande de dispense pour un aspect quelconque de l'évaluation du risque.

En vertu d'un PE avec ECCC et SC, pour les produits du poisson produise de la biotechnologie relevant du RRSN(O) et de la LCPE, le MPO fournit un avis scientifique sous la forme d'une évaluation du risque environnemental et collabore avec SC à l'évaluation du risque indirect pour la santé humaine. Conformément à cette entente, le ministre d'ECCC reçoit un avis scientifique

du MPO sur l'évaluation du risque, mais il a la responsabilité de prendre la décision réglementaire définitive. En vertu de la LCPE, en fonction des résultats de cette évaluation, il peut y avoir différentes options pour gérer les risques associés à l'organisme. ECCC a la responsabilité d'appliquer le RRSN(O), y compris d'assurer la conformité aux conditions à respecter ou l'application d'autres mesures de gestion du risque.

La portée de l'évaluation mentionnée à l'annexe 5 du RRSN(O) doit aussi tenir compte de tous les scénarios potentiels et non seulement ceux proposés par le requérant. S'il n'y a pas suffisamment d'information pour évaluer toutes les applications potentielles, il faut alors adopter une approche « au cas par cas » dans le cadre de laquelle l'utilisation spécifique proposée mentionnée dans la soumission, y compris les mesures d'atténuation ou de confinement, détermine les paramètres spécifiques de l'évaluation du risque (p. ex., voies d'exposition possibles). Toutefois, si l'évaluation du risque indique qu'il n'y a aucune raison de croire qu'un organisme « est toxique au sens de la LCPE » dans le cadre du scénario proposé, mais que l'organisme pourrait être toxique dans le cadre d'un scénario différent, alors il est possible d'appliquer les dispositions relatives aux NAc de la LCPE pour réévaluer l'importation ou la production de l'organisme en fonction des circonstances de la NAc. L'évaluation de la NAc est la responsabilité d'ECCC, mais il est possible de consulter le MPO pour divers éléments.

Pour de plus amples renseignements sur la LCPE et le RRSN(O), y compris des directives relatives au règlement, des indications détaillées sur l'information requise, les dispenses, les nouvelles activités, les résultats des évaluations du risque et la gestion des risques potentiels, consulter la page sur la biotechnologie du site Web d'ECCC.

1.3 PRISE DE DÉCISIONS RÉGLEMENTAIRES

Les décisions réglementaires prises en vertu de la LCPE sont fondées sur le fait qu'un organisme vivant est ou n'est pas « toxique au sens de la LCPE », ce qui est déterminé par une évaluation du risque scientifique à partir des renseignements devant être fournis pour respecter les exigences de l'annexe 5 du RRSN(O) et à l'aide d'autre information. Comme indiqué à la figure 1.1, les évaluations du risque entraînent l'un des résultats suivants :

1. L'organisme n'est pas considéré comme « toxique au sens de la LCPE » et ne peut pas le devenir.

2. L'organisme n'est pas considéré comme « toxique au sens de la LCPE » dans le scénario proposé, mais une NAc liée à l'organisme pourrait faire qu'il le devienne. Dans ce cas, un avis de NAc est publié pour recueillir de l'information supplémentaire qui appuiera la nouvelle évaluation de l'organisme en fonction de la NAc.

3. L'organisme est considéré comme « toxique au sens de la LCPE » ou peut le devenir, ce qui peut exiger :

    a. d'établir des conditions à respecter pour la production, l'importation, l'utilisation et l'élimination de l'organisme;

b. d'interdire la production ou l'importation de l'organisme en attendant que de nouveaux règlements soient mis en place par le gouvernement à l'intérieur d'un échéancier à respecter;

c. d'interdire ces activités avant que de nouveaux renseignements requis soient soumis et évalués.

1.4 CADRE D'ÉVALUATION DU RISQUE

Les évaluations du risque pour des poisons génétiquement conçus réalisées par le MPO en vertu du RRSN(O) sont effectuées conformément aux principes suivants :

- Les évaluations du risque sont de nature scientifique et ne tiennent pas compte des facteurs socio-économiques et éthiques ou des rapports d'avantages/désavantages.
- Une approche « du berceau à la tombe » exhaustive est adoptée, l'organisme étant évalué à partir du moment de la production jusqu'à son élimination.
- Tous les stades biologiques, les génotypes et les sexes dotés du transgène sont pris en compte dans l'évaluation du risque.
- Chaque événement qui entraîne une modification génétique, comme l'insertion d'un transgène ou une mutagénèse dirigée, est considéré comme indépendant et unique, et chaque poisson génétiquement conçu au moyen de la biotechnologie est tenu pour être une souche unique et est évalué séparément dans le cadre d'avis différents.
- Les caractéristiques de l'organisme déclaré sont comparées à celles de souches sauvages ou domestiques non génétiquement conçues, ou encore les deux, selon ce qui est le plus pertinent.
- Les changements anticipés pour les paramètres de mesure dépassant les variations normales ou de l'historique peuvent être des indications d'un nouveau phénotype, et il faut évaluer leur potentiel de nuisance envers l'environnement ou à la santé humaine de façon indirecte.
- Tous les renseignements disponibles (p. ex., connaissances académiques, autochtones, gouvernementales), en plus de ceux transmis par l'auteur de l'avis soumis en vertu du RRSN(O) sont utilisés dans le cadre de l'évaluation.

L'évaluation du risque environnemental considère le potentiel de l'organisme en matière d'effets nocifs sur les composantes aquatiques, terrestres et atmosphériques de l'environnement canadien et adopte le paradigme traditionnel stipulant que le risque est proportionnel à l'exposition et au danger ($R \propto E \times D$). La figure 1.1 présente le processus global de réalisation des évaluations du risque scientifiques du MPO pour les poissons génétiquement conçus.

1.4.1 Objectifs de protection

Les objectifs de protection sont conformes à la LCPE et ils sont sélectionnés pour protéger l'environnement canadien et sa diversité biologique, ainsi que la santé et la vie humaines, des effets nocifs immédiats et à long terme sur l'environnement dont la vie dépend. En conséquence, les conclusions et les recommandations de ces évaluations remises à ECCC à propos de la gestion du risque doivent être conformes à la LCPE et fondées sur la probabilité, la gravité et la réversibilité des effets nocifs associés à l'introduction de poissons génétiquement conçus sur la structure et la fonction de l'écosystème canadien. Les effets nocifs comprennent les répercussions nuisibles immédiates et à long terme. La structure de l'écosystème réfère à la répartition spatiale et temporelle des facteurs biotiques et abiotiques, ce qui inclut les espèces dominantes, les espèces rares et les espèces clés, tandis que la fonction de l'écosystème concerne les interactions entre espèces (p. ex., concurrence, prédation, maladies) et les éléments abiotiques contribuant aux services de l'écosystème (p. ex., dispersion des nutriments et cycle nutritif, production primaire, décomposition, habitat). Les changements apportés à la structure ou à la fonction de l'écosystème sont évalués en fonction des modifications de paramètres d'évaluation.

1.4.2 Paramètres d'évaluation

Sutter (1990) définit un « paramètre d'évaluation » comme l'expression formelle de l'élément de l'environnement réel devant être protégé (c.-à-d., l'objectif de protection), ce qui est différent d'un paramètre de mesure qu'il caractérise comme une réaction en réponse à un danger observée ou mesurée. Les paramètres d'évaluation sont les entités écologiques susceptibles de subir des effets nocifs en cas d'exposition à un agent de stress et ils doivent être protégés pour atteindre les objectifs de protection établis (U. S. EPA 1998; Wolt et al. 2010). Ils sont sélectionnés en fonction de leur pertinence pour les interactions potentielles entre l'organisme et les composantes de l'écosystème et ils sont liés aux objectifs de protection de la LCPE.

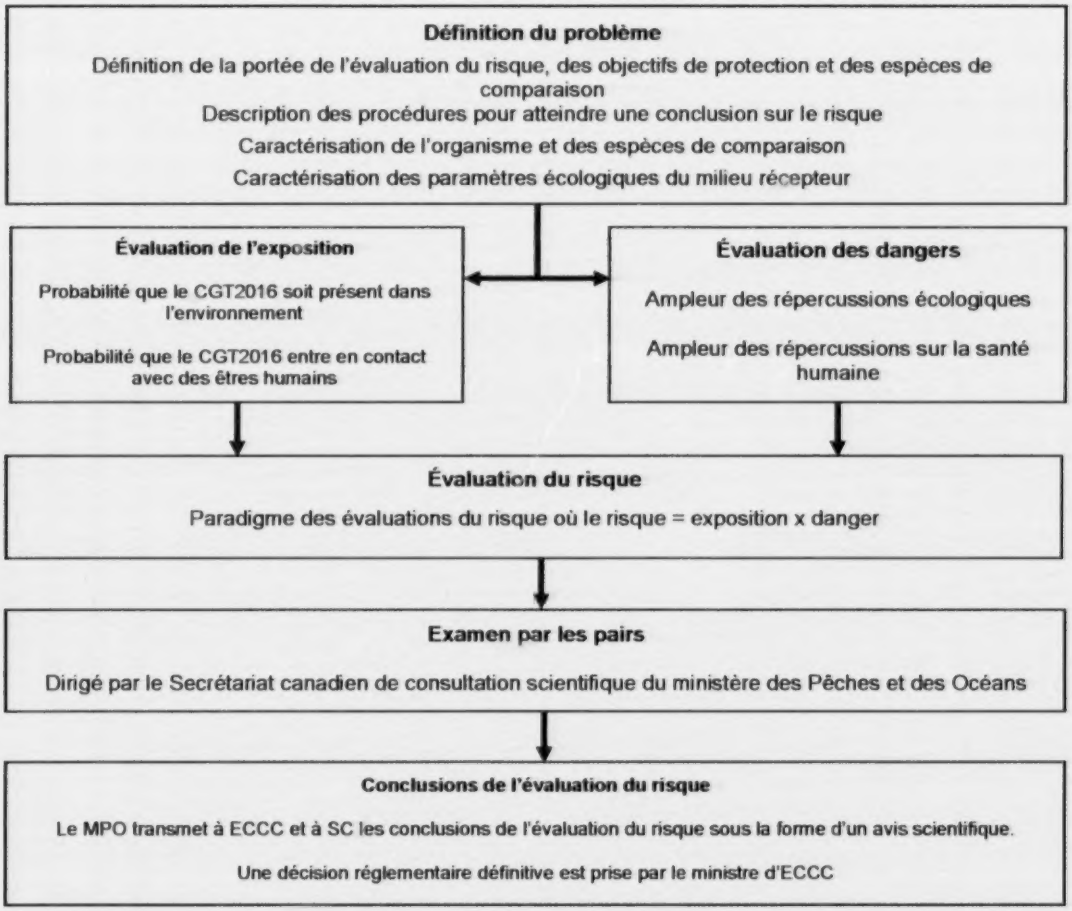

Figure 1.1 : *Cadre de l'évaluation du risque du MPO pour les poissons génétiquement conçus déclarés en vertu de l'annexe 5 de la LCPE.*

***Figure 1.2** : Exemple de Leggatt et al. (2010) simplifié et adapté pour illustrer une séquence potentielle des effets des poissons génétiquement conçus sur les composantes de l'écosystème canadien, ce qui, dans le cas présent, est la diversité des proies. Les commentaires à l'intérieur des zones de texte pointillées indiquent des facteurs pouvant influencer chacune des étapes de la séquence (ces étapes sont indiquées dans les autres zones de texte).*

1.4.3 Paramètres de mesure

Les paramètres de mesure directs, comme l'abondance de proies lorsque l'organisme est présent dans ou absent de l'environnement naturel, fournissent des données directes sur l'organisme sans extrapolation et avec le moindre degré d'incertitude. Toutefois, cette information ne peut pas toujours être recueillie et les évaluateurs du risque doivent donc parfois se fier à des données indirectes sur les paramètres de mesure, celles-ci étant des indications des conséquences potentielles sur les paramètres d'évaluation. Par exemple, plutôt que de mesurer directement l'abondance d'une proie spécifique dans un étang d'eau douce en présence ou en l'absence de l'organisme, ces évaluateurs peuvent devoir se fier à des études indiquant les phénotypes qui auront probablement des effets sur l'abondance de proies dans l'environnement naturel, comme ceux influant sur les comportements concurrentiels et de prédation. Les paramètres modifiant les paramètres de mesure sont donc signalés pour l'organisme et les organismes de comparaison pertinents, et toute variation au-delà des valeurs de référence normales pour l'organisme de comparaison est évaluée et les répercussions potentielles sur les paramètres de mesure pertinents sont consignées.

Les paramètres de mesure environnementaux sont sélectionnés en fonction de leur pertinence pour les interactions potentielles entre l'organisme et les composantes de l'écosystème (Devlin et al. 2007) et ils sont liés aux objectifs de protection adoptés de la LCPE. Les séquences d'effets peuvent être utilisées pour décrire les liens entre les activités associées à l'organisme et

les répercussions potentielles sur l'environnement (DFO 2010; Leggatt et al. 2010). La figure 1.2 illustre de quelle façon les effets potentiels, comme une modification de la diversité de proies, peuvent être évalués dans le cadre d'une seule séquence composée des composantes de l'écosystème pertinentes, et aident à décrire les liens entre les activités associées à l'organisme et les répercussions potentielles sur l'environnement si le poisson est introduit dans celui-ci. Cette approche pour la détermination et l'analyse des paramètres d'évaluation clés et des liens clés entre les agents de stress et les effets est conforme au cadre des évaluations du risque du MPO réalisées en vertu du *Règlement sur les activités d'aquaculture* pour les activités de conchyliculture et de pisciculture (DFO 2010). Toutefois, pour les poissons génétiquement conçus, les catégories des agents de stress déterminées au moyen de l'analyse de séquence des effets peuvent être définies de manière encore plus pointue pour qu'elles soient conformes aux objectifs de protection adoptés en vertu de la LCPE : protéger la biodiversité et l'environnement dont la vie et la santé humaine dépendent.

Pour les évaluations du risque environnemental, les effets sont nocifs s'il y a des répercussions potentielles nuisibles immédiates ou à long terme sur la fonction ou la structure de l'écosystème. La structure de l'écosystème réfère à la répartition spatiale et temporelle des facteurs biotiques et abiotiques, ce qui inclut les espèces dominantes, les espèces rares et les espèces clés. La fonction de l'écosystème concerne les interactions entre espèces et les éléments abiotiques contribuant aux services de l'écosystème (p. ex., dispersion des nutriments et cycle nutritif, production primaire, décomposition, habitat).

1.4.4 Incertitude

L'évaluation du risque tient compte de façon explicite de l'incertitude associée à tous les éléments des évaluations de l'exposition et des dangers. L'incertitude a des conséquences importantes pour la prise de décisions réglementaires et est étroitement liée à la prise de précautions. Conformément à la politique du Canada sur l'application de mesures de précaution élaborée dans le cadre de l'application de la précaution dans un processus décisionnel scientifique en gestion du risque (Gouvernement du Canada, 2003), lorsque l'incertitude liée au risque est élevée, l'ampleur des mesures de précaution mises en place doit être proportionnelle à la gravité potentielle du risque traité et au niveau de protection choisi par la société.

Les facteurs influençant l'incertitude comprennent le degré de disponibilité d'informations détaillées sur l'organisme, son historique d'utilisation, le scénario d'utilisation proposée ainsi que la quantité, la pertinence (p. ex., information spécifique à l'organisme déclaré plutôt qu'à un organisme de comparaison) et la qualité des données empiriques et des renseignements examinés par les pairs. L'importance des lacunes dans les connaissances, la variabilité inhérente des systèmes biologiques, les données expérimentales, la puissance de la logique de déduction et les déductions tirées des connaissances des experts sur l'espèce influencent aussi l'incertitude. Bien que certaines formes d'incertitude peuvent être réduites en corrigeant les lacunes dans les connaissances ou en obtenant plus de données, d'autres ne peuvent l'être, en raison de facteurs comme la complexité et la variabilité des systèmes biologiques et l'occurrence d'événements aléatoires.

En réalisant des évaluations du risque environnemental, les mesures suivantes seront employées pour déterminer et comprendre les incertitudes précisément et les réduire autant que possible :

- Un processus scientifique d'examen par les pairs exhaustif sera appliqué pour l'évaluation du risque afin de recevoir des conseils objectifs d'experts pour tous les aspects clés et assurer que les lacunes dans les connaissances et les divergences d'opinions des scientifiques sont déterminées et traitées adéquatement chaque fois que c'est possible.

- L'incertitude sera estimée de façon explicite et indiquée séparément pour chaque élément des évaluations de l'exposition et des dangers afin que le risque global ne soit pas sous-estimé ou surestimé en incluant des hypothèses trop conservatrices ou qui négligent des faits.

1.5 CHARACTÉRISATION DU CGT2016

Dans l'avis, le CGT2016 est décrit de la façon suivante :

« [...] *une lignée de tétras transgéniques de l'espèce Gymnocorymbus ternetzi vert fluorescent et diploïdes, homozygotes ou hémizygotes, à nageoires longues ou régulières, dotée de la construction génétique* [...] *Le CGT2016 est issu d'une lignée de tétras blanc, variante à pigments naturels du* G. ternetzi. *Pour les tétras hémizygotes, la réaction de polymérisation en chaîne (PCR) quantitative en temps réel indique qu'il y a une copie de la cassette d'expression insérée. » Le locus d'intégration est transmis aux descendants comme site unique. »*

Les noms commerciaux du CGT2016 sont le tétra GloFish[MD] Electric Green[MD] et le tétra à longues nageoires GloFish[MD] Electric Green[MD]. La dénomination biologique explicite proposée est : « *Un* Gymnocorymbus ternetzi *génétiquement conçu de la descendance du tétra vert 0, le père de la lignée GT-0, et doté d'un seul insert stable de la construction.* »

La figure 1.3 montre l'apparence du CGT2016 ainsi que du tétra noir sauvage et de la variante blanche du tétra noir, ce qui inclut la variante à longues nageoires dans tous les cas.

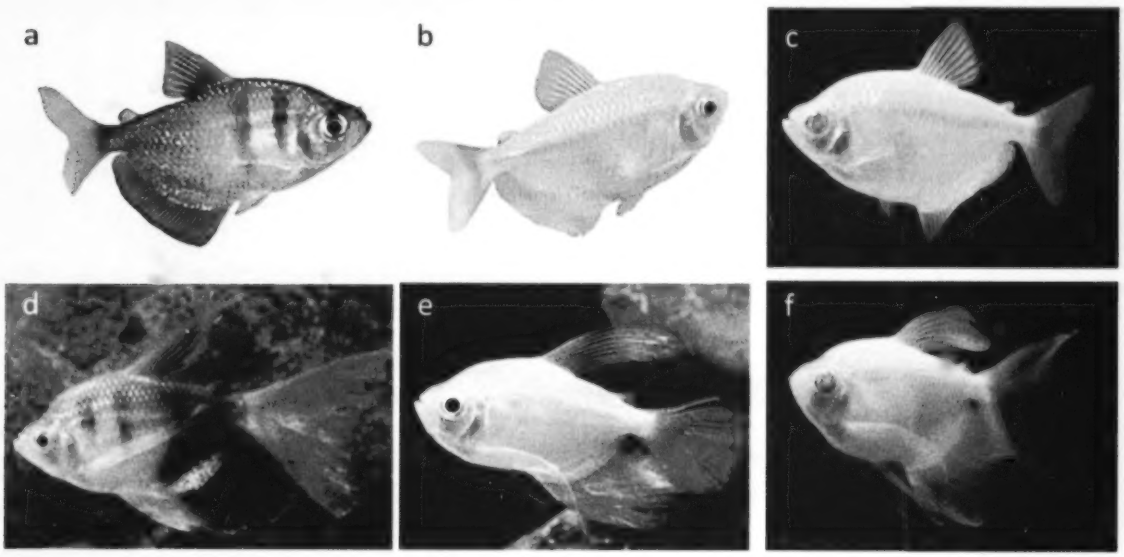

***Figure 1.3** : Certaines variantes du Gymnocorymbus ternetzi disponibles dans le commerce du poisson d'ornement à l'échelle mondiale (a, b, d, e), et variantes transgéniques déclarées uniquement disponibles aux États-Unis (c, f). Tétras noirs sauvages (a, d), tétras blancs (b, e) et tétras CGT2016 Electric Green[MD] à nageoires normales ou longues, respectivement (c, f). Images de PetSmart (a, b), GloFish (c, f) et Segrest Farms (d, e).*

1.5.1 Caractérisation moléculaire

Le CGT2016 est une variante blanche génétiquement conçue du tétra noir (*G. ternetzi*) dotée d'un seul insert transgénique contenant des promoteurs qui proviennent de poissons et entraînent l'expression d'une protéine fluorescente exogène. Sous une lumière blanche, l'organisme devient complètement vert et sous une lumière bleue ou ultraviolette il devient vert fluorescent. Cette modification a pour objet de créer un nouveau phénotype de couleur pour l'espèce *G. ternetzi* destinée au commerce des poissons d'ornement d'aquarium.

La construction transgénique a été injectée dans des œufs récemment fécondés de tétras blancs, variété blanche sauvage du tétra noir (*G. ternetzi*, ci-après désigné tétra blanc). Dans les générations suivantes, la présence d'une copie unique de l'insert de la construction a été confirmée par un essai de PCR quantitative comparé à une courbe standard, et le site d'insertion unique a été confirmé par l'analyse par transfert de Southern. La ségrégation du transgène en cas d'accouplement avec des poissons sauvages a également confirmé la présence d'un site d'insertion unique.

Les spécimens de CGT2016 peuvent être hémizygotes (à savoir, ils disposent d'une seule copie de la construction transgénique insérée dans un locus) ou homozygotes (à savoir, ils disposent de deux copies dans ce même locus), les deux génotypes ayant les mêmes phénotypes verts.

Des précisions supplémentaires concernant la structure, le développement et la fonction de la construction transgénique ont été fournies par la compagnie aux fins de l'examen, mais ces

renseignements sont désignés comme renseignements commerciaux confidentiels et ne sont pas inclus dans le présent rapport.

1.5.2 Caractérisation du phénotype

1.5.2.1 Historique et production de la souche

Les tétras blancs utilisés pour produire le CGT2016 sont une variante blanche naturelle du tétra noir (Frankel 2004, voir la figure 1.3), souche dont l'élevage est habituellement fait séparément de celui du tétra noir introduit en Amérique du Nord avant 1950 (Innes 1950). Les individus utilisés pour produire le CGT2016 ont été fournis par un producteur de poissons d'ornement d'aquarium (5-D Tropical) en 2007. Tous les poissons CGT2016 (voir la figure 1.3) sont les descendants d'un seul individu en phase G0 dans lequel a été injecté le transgène lorsque l'organisme ne formait qu'une seule cellule. Ce seul individu a été croisé avec plusieurs tétras blancs non transgéniques pour produire plusieurs groupes hétérozygotes F1.

La lignée du CGT2016 est maintenue en faisant de l'élevage par lots de spécimens de CGT2016 afin que la population comporte un mélange d'individus hétérozygotes et homozygotes pour le transgène. Tous les tétras blancs sont retirés de la population du CGT2016 et transférés vers des populations de tétras blancs non transgéniques. Tous les individus atypiques sont éliminés. Le CGT2016 est produit à des fins commerciales pour le commerce de poissons d'ornement destinés aux aquariums aux États-Unis, à l'exception de la Californie, depuis 2012, et en Californie depuis 2015. Le CGT2016 est produit par deux producteurs de poissons d'aquarium de la Floride (É.-U.).

1.5.2.2 Effets phénotypiques ciblés de la modification

L'effet phénotypique visé de la modification génétique consiste à faire en sorte que les CGT2016 soient verts lorsqu'ils sont soumis à la lumière ambiante, y compris celle du soleil, afin de créer une nouvelle variante à couleur brillante pour le commerce de poissons d'ornement destinés aux aquariums (voir la figure 1.3). En outre, lorsque l'organisme déclaré est sous la lumière bleue ou ultraviolette (maximum du spectre d'excitation de 493 nm), il devient vert fluorescent (maximum du spectre d'émission de 505 nm, clonetech.com). Ce nouveau phénotype de couleur est présent dans les muscles ainsi que dans la peau et les yeux. Jusqu'à présent, aucun rapport n'a indiqué que les organes internes sont influencés par le phénotype, mais c'est probablement le cas en raison du promoteur du transgène utilisé, quoiqu'à des degrés divers.

En ce qui a trait à l'insert transgénique, GloFish signale que les CGT2016 hémizygotes et homozygotes ne peuvent être distingués l'un de l'autre sur le plan phénotypique et que les deux sont offerts sur le marché.

1.5.2.3 Effets phénotypiques non ciblés de la modification

Deux effets phénotypiques non ciblés ont été recensés par GloFish LLC chez les CGT2016 : une tolérance moindre aux températures basses et une diminution du succès de la reproduction par rapport à leurs semblables sauvages. Même si ces changements sont légers et qu'ils ne devraient pas avoir de répercussion sur l'adaptation de ces organismes dans les aquariums

domestiques, ils pourraient avoir des effets négatifs sur la capacité de ces organismes à survivre et à se reproduire dans l'environnement canadien. La société GloFish LLC a fourni des données démontrant que la survie au stade embryonnaire ou juvénile des CGT2016 et des tétras transgéniques vert fluorescent liés ne se distinguait pas de celle des tétras blancs. Quoique des précisions supplémentaires aient été fournies par la compagnie aux fins d'examen, ces renseignements sont désignés comme renseignements commerciaux confidentiels et ne sont pas inclus dans le présent rapport.

L'influence de la modification génétique sur d'autres phénotypes n'a pas été examinée de façon officielle. GloFish LLC a fourni un résumé sur un examen diagnostique effectué par le Fish Disease Diagnostic Lab de la University of Florida à partir des tissus de six spécimens de CGT2016. Le document n'indiquait aucune caractéristique d'apparence physique inhabituelle ni lésion pathologique d'organe important (p. ex., en ce qui concerne les résultats de la nécropsie : « *Tous les résultats étaient normaux sauf pour la présence d'un petit nombre de nématodes* (Capillaria) *dans un des six poissons et d'un nombre modéré de ceux-ci dans cinq d'entre eux* »; en ce qui concerne les résultats microbiologiques pour le cerveau et le rein postérieur : « *Aucune croissance bactériologique observée* »; en ce qui concerne l'examen histologique des organes importants : « *Aucune lésion pathologique observée pour les poissons examinés* »). Il faut remarquer que l'histologie des poissons examinés n'a pas été comparée directement à celle des poissons sauvages et que l'examen mettait l'accent spécifiquement sur les lésions pathologiques et les signes de maladie macroscopiques. En outre, GloFish LLC a fourni des déclarations du vétérinaire de la compagnie et d'un vétérinaire de la University of Florida faisant du dépistage de maladies pour la compagnie affirmant que rien n'indique que le CGT2016 ou toute autre lignée fluorescente est plus vulnérable à des troubles de la santé ou aux pathogènes d'origine hydrique ni plus susceptible d'en transmettre et que le CGT2016 doit être élevé comme ses semblables non transgéniques. Selon le vétérinaire de l'université : « *Mes observations pendant l'évaluation du tétra vert fluorescent susmentionné indiquent que la caractéristique de fluorescence exprimée n'entraîne pas plus de troubles de santé importants chez celui-ci que chez son équivalent non génétiquement conçu. Spécifiquement, en fonction de mon expérience personnelle et des résultats de la nécropsie, je n'ai pas constaté d'indices indiquant que le tétra vert fluorescent est plus vulnérable aux pathogènes ou susceptible d'en transmettre. En outre, il est pertinent de noter que c'est le cas de chaque lignée de poisson fluorescent de Yorktown Technologies examinée par mon laboratoire. De façon similaire, nous n'avons pas remarqué de signes indiquant une augmentation du risque de zoonose chez les lignées de poissons fluorescents de Yorktown Technologies, ce qui comprend le tétra vert fluorescent, lorsqu'elles sont comparées aux souches sauvages.* » Le vétérinaire de 5-D Tropical Inc., quant à lui, affirme : « *Les poissons d'ornement fluorescents de Yorktown Technologies doivent être élevés comme leurs semblables non fluorescents, y compris pour les soins vétérinaires. Je n'ai constaté aucun signe indiquant que le tétra vert fluorescent est plus vulnérable aux pathogènes d'origine hydrique ou susceptible d'en transmettre. Les poissons tropicaux d'ornement d'eau douce ne sont pas des vecteurs communs pour les maladies zoonotiques et le tétra vert et les autres poissons tropicaux fluorescents de Yorktown Technologies ne posent pas plus de risque que leurs semblables non génétiquement conçus en ce qui concerne le risque de zoonose.* » (Information supplémentaire fournie par GloFish LLC.)

Aucune étude formelle n'a comparé la vulnérabilité potentielle aux maladies du CGT2016 et des souches sauvages. Il n'existe pas de telles études pour les effets non ciblés potentiels de la modification génétique sur le cycle biologique (autre que le succès de reproduction et la viabilité des juvéniles), les tolérances et les exigences relatives à l'environnement (autres que la tolérance aux températures moindres), le métabolisme, l'endocrinologie et le comportement. Toutefois, il n'y a aucun rapport quelconque sur des effets non ciblés autres que ceux susmentionnés.

1.5.2.4 Effets pléiotropiques des transgènes de protéine fluorescente sur d'autres organismes

Transgènes de protéine fluorescente injectés dans d'autres poissons

Bien que la construction soit rarement utilisée en tant que transgène dans d'autres organismes, d'autres protéines fluorescentes, y compris les protéines vertes fluorescentes améliorées (eFGP), sont largement utilisées pour la recherche scientifique sur divers organismes, et certaines études pertinentes sur l'évaluation du risque ont été réalisées sur un autre petit poisson tropical transgénique (le poisson zèbre, *Danio rerio*) pour la protéine à fluorescence rouge (RFP). La température critique minimale (TCmin) et la température létale chronique minimale (TLCmin) du poisson zèbre doté du transgène de RFP étaient plus élevées (tolérance au froid inférieure) et sa tolérance aux températures élevées était légèrement inférieure à celle de ses semblables sauvages non liés, lorsque les examens étaient réalisés en fonction de différentes températures d'acclimatement (Cortemeglia and Beitinger 2005, 2006a), quoique les différences d'origines et des conditions d'élevage des souches (Schaefer and Ryan 2006) avant l'expérience peuvent avoir eu des conséquences sur la tolérance relative aux températures extrêmes. Amanuma et al. (2008) n'ont signalé aucune différence pour la tolérance aux températures faibles entre les poissons zèbres sauvages et ceux dotés de RFP au Japon, quoique le nombre de spécimens était faible (n = 7 poissons par génotype) et aucune comparaison statistique n'avait été faite, alors il faut ne pas prendre ces conclusions au pied de la lettre. Leggatt et al. (2018) ont signalé que les poissons zèbres dotés de l'eGFP s'exprimant sous l'action du promoteur de protéine Fli-1 étaient moins tolérants au froid que ceux sauvages, mais la tolérance au froid de deux autres lignées de ce type dotées d'autres promoteurs n'était pas réduite, ce qui peut indiquer que différentes lignées transgéniques réagissent de façon différente aux agents de stress extrêmes de l'environnement. Pour une population de poissons zèbres sauvages ainsi que de poissons zèbres dotés de l'eGFP, de la RFP ou des deux protéines (s'exprime sous l'action d'un promoteur spécifique aux muscles), le taux de survie des poissons avec l'eGFP était inférieur à celui des trois autres groupes, mais la RFP et le double transgène n'ont entraîné aucun effet en la matière (Gong et al. 2003), ce qui indique que différents transgènes peuvent avoir une influence différente sur le taux de survie. Le taux de survie inférieur des poissons zèbres dotés de la RFP par rapport à leurs semblables sauvages a aussi été confirmé pour les juvéniles et les adultes dans des conditions de laboratoire (Howard et al. 2015). Aucune différence causée par des transgènes fluorescents n'a été observée pour la recherche de nourriture, et ce, pour toutes les espèces. La RFP n'a eu aucun effet sur la vulnérabilité à la prédation des poissons zèbres et ne l'a pas augmenté ni réduite. Hill et al. (2011) ont remarqué que les poissons zèbres GloFish^{MD} dotés de la RFP étaient deux fois plus vulnérables à la prédation des achigans à grande bouche et des gambusies que les

poissons zèbres sauvages provenant des mêmes producteurs. De façon contrastante, Cortemeglia and Beitinger (2006b) ont découvert qu'un achigan à grande bouche sauvage indigène capturé mangeait autant de poissons zèbres dotés de la RFP que de poissons zèbres sauvages sans lien avec la population précédente et de gambusies indigènes capturées, tandis que Jha (2010) a remarqué qu'une souche de poissons zèbres dotée de la RFP en Inde était moins mangée par les poissons-serpents que les poissons zèbres sauvages capturés sans lien ou les *Esomus danricus* sauvages capturés, et que les deux groupes de proies capturées étaient mangés dans une proportion plus importante s'ils étaient élevés avec des poissons zèbres dotés de la RFP que s'ils étaient élevés ensemble, ce qui indique que le prédateur évite activement ces poissons zèbres. Les facteurs influençant les différences de vulnérabilité relative à la prédation des poissons zèbres dotés de la RFP sont inconnus, mais ils pourraient comprendre des différences de bagage génétique ou d'élevage de poissons zèbres transgéniques ou sauvages, des préférences innées ou le cycle biologique des prédateurs ou encore les conditions des expériences (p. ex., présence d'abris pour les proies).

Les répercussions de la RFP et d'autres transgènes fluorescents sur le succès de reproduction ou les préférences des poissons zèbres varient tout autant. Les femelles sauvages et celles dotées de la RFP arrivent à maturité en même temps et les mâles et les femelles des deux types deviennent féconds au même âge (Howard et al. 2015). Pour une population dotée d'un nombre égal de poissons zèbres sauvages et de poissons zèbres dotés de l'eGFP pouvant se reproduire pendant une semaine, la proportion mendélienne de transgènes eGFP attendue chez les descendants était respectée, ce qui indiquait que les poissons zèbres dotés de l'eGFP n'avaient pas d'avantages ni de désavantages pour la reproduction (Gong et al. 2003). De façon contrastante, Owen et al. (2012) ont réalisé que les poissons zèbres femelles dotés de la RFP et celles sauvages préfèrent s'associer à des mâles dotés de la RFP plutôt qu'à des mâles sauvages, peu importe le rapport du nombre de poissons sauvages sur le nombre de poissons dotés de la RFP pendant leur élevage. Toutefois, pour les essais de reproduction par paires uniques, il n'y avait aucune différence pour ce qui est de la période de latence et du nombre d'accouplements de la femelle en fonction du type de mâle (sauvage ou RFP) et du type de mâle préféré. Une autre étude indiquait que le succès de reproduction des mâles dotés de la RFP était inférieur que celui des mâles sauvages et que le niveau d'agressivité des mâles et des femelles état plus bas (Howard et al. 2015). Pour ce qui est d'autres comportements, Jha (2010) a signalé que les poissons zèbres dotés de la RFP étaient plus agressifs que ceux sauvages capturés sans lien, particulièrement s'ils étaient été élevés ensemble. Snekser et al. (2006) ont découvert que le transgène de la RFP n'influence pas les préférences en matière de partenaires sociaux pour les poissons se rassemblant en bancs ou ceux dans un contexte de reproduction potentielle en étudiant des populations des deux types vraisemblablement sans lien.

Howard et al. (2015) ont aussi examiné le devenir des poissons dotés de la RFP sur plus de 15 générations dans une expérience de reproduction « en série » effectuée sur 18 populations de poissons zèbres. Pour cette expérience, des descendants étaient retirés des aquariums quotidiennement jusqu'à ce qu'il y en ait suffisamment pour la prochaine génération. Ils étaient élevés séparément jusqu'à ce qu'ils soient suffisamment âgés pour la reproduction, puis les parents étaient enlevés et la prochaine génération était ajoutée aux aquariums. Pour toutes les

populations élevées dans ces conditions, la fréquence d'apparition du transgène a diminué rapidement et il a été éliminé de toutes les populations sauf une, ce qui indiquait une forte tendance contre la transmission du gène par la reproduction. Cette étude indique que les poissons zèbres dotés de la RFP seraient très désavantagés par rapport à ceux qui sont sauvages, bien que les contraintes de l'expérience exigeaient de concevoir une expérience dont les conditions étaient fortement dictées par l'être humain, ce qui ne serait pas le cas pour les populations introduites dans la nature.

Transgènes de protéine fluorescente injectés dans des espèces qui ne sont pas des poissons

En général, les protéines fluorescentes sont considérées comme neutres, c'est-à-dire que leur présence ne modifie pas de façon importante les fonctions des cellules et qu'en conséquence elles sont souvent utilisées comme gènes marqueurs neutres pour la recherche. Toutefois, il existe quelques rapports sur des transgènes fluorescents (surtout des GFP ou des eGFP qui sont les transgènes fluorescents les plus utilisés) qui auraient des effets nocifs sur les organismes, particulièrement ceux pour lesquels le transgène s'exprime fortement.

Chez les souris, le développement initial des souris de différentes lignées dotées d'une GFP ou d'une GFP qui s'exprimait beaucoup était médiocre (Devgan et al. 2004), ces souris avaient des problèmes de reins et le taux de mortalité des adultes était élevé en raison de défaillances rénales (Guo et al. 2007), et il y avait une augmentation de la myocardiopathie, ce qui entraînait un taux de mortalité élevée causée par des insuffisances cardiaques congestives (Huang et al. 2000a). Ces études indiquaient que les lignées de souris dotées d'une GFP s'exprimant moins se développaient de manière normale et d'autres études signalaient que cette protéine n'avait aucun effet sur le développement initial de l'embryon des souris (p. ex., Sakharova et al. 2011). En outre, Tao et al. (2007) ont découvert que les souris dotées de cellules souches hématopoïétiques transplantées exprimant la GFP conservaient cette dernière pendant la plus grande partie de leur vie, mais que la protéine DsRed disparaissait rapidement des souris dotées de cette dernière, ce qui démontrait que différents gènes fluorescents ou lignées peuvent être associés à différents degrés de succès. Li et al. (2013) ont constaté que les voies métaboliques des souris dotées de l'eGFP étaient modifiées, ce qui comprend celles du cycle de l'urée, du métabolisme de l'acide nucléique, de l'utilisation de l'énergie et du catabolisme des aminoacides. Au chapitre de la fécondité, Sakharova et al. (2011) ont indiqué que le nombre d'ovules viables des souris dotées de la GFP diminuait tandis que l'expression de celle-ci n'avait aucun effet apparent sur la fécondité des mâles (Villuendas et al. 2001). Pour une plante, l'expression de la GFP n'avait aucun effet sur la valeur adaptative du pollen dans des conditions expérimentales contrôlées (Hudson and Stewart 2004).

En général, la GFP n'est pas toxique, la majorité des études n'ayant pas démontré qu'elle l'est (p. ex., voir Stewart 2001; Stewart 2006), bien que certains rapports indiquent que celle-ci et d'autres protéines fluorescentes entraînent une augmentation de la mortalité et une prolifération cellulaire médiocre et que certaines combinaisons de promoteurs et de transgènes de protéines fluorescentes peuvent être plus appropriées que d'autres pour certaines lignées cellulaires (voir Jensen 2012). Par exemple, la GFP a entraîné une diminution de la viabilité ou rendu toxique des cellules hépatiques humaines (Li et al. 1999), des spermatides de souris (Huang et al.

2000b) et des cellules ovariennes de hamster qui manquent de Ku80 (facteur essentiel de ligature d'extrémités non homologues pour la réparation d'ADN, Koike et al. 2013). Toutefois, Koike et al. (2013) ont découvert que l'expression de la YFP n'avait aucun effet et Tao et al. (2007) ont constaté que la croissance des cellules souches hématopoïétiques exprimant la DsRed était médiocre tandis que ce n'était pas le cas des cellules exprimant la GFP, ce qui démontrait que la viabilité de différents gènes fluorescents de diverses lignées varie.

Pour les lignées cellulaires, l'expression de la GFP entraîne des modifications d'expression génique (Badrian and Bogoyevitch 2007; Kam et al. 2013; Thomas and Nielsen 2005) ou de séquences de protéomes (Coumans et al. 2014). La fonction de plusieurs gènes altérés par la GFP n'a pas encore été déterminée (Badrian and Bogoyevitch 2007; Thomas and Nielsen 2005), bien que l'expression de plusieurs gènes associés à la signalisation cellulaire et aux réponses au stress ou aux fonctions immunitaires ait été modifiée par la GFP (Badrian and Bogoyevitch 2007; Baens et al. 2006; Coumans et al. 2014; Mak et al. 2007), ce qui comprend les réponses aux événements cytotoxiques (Goto et al. 2003; Kam et al. 2013; Koelsch et al. 2013; Koike et al. 2013). Il n'a pas encore été examiné si cela peut se traduire par une réponse au stress ou à un stimulus différente pour tout un animal, mais selon les études sur les lignées cellulaires, tout effet serait nocif pour les réponses et la survie en fonction d'environnements fluctuants.

D'autres fonctions cellulaires modifiées par des transgènes fluorescents comprennent une dégradation des interactions d'actines-myosines et des propriétés contractiles des muscles à cause de la GFP qui se lie à la myosine (Agbulut et al. 2007) et une réduction de la virulence des *Mycobacterium marinum* chez qui la GFP s'exprime trop et qui infectent le medaka, mais pas des bactéries chez qui la RFP s'exprime (Mutoji and Ennis 2012), bien que Seif et al. (2016) aient constaté que l'expression de la GFP n'a aucun effet sur la virulence des *Leishmania* chez les souris.

1.5.3 Historique d'utilisation

La première protéine fluorescente découverte a été la GFP naturelle de la méduse *Aequorea victoria*, celle-ci ayant été tout d'abord caractérisée par Shimomura (1979). Depuis, de nombreuses protéines fluorescentes d'autres cnidaires ont été caractérisées (voir Stewart 2006). Les protéines fluorescentes naturelles semblent être courantes chez de nombreux organismes marins, y compris les poissons (Sparks et al. 2014). Depuis leur découverte, les protéines fluorescentes ont été utilisées comme marqueurs de gène neutres pour de nombreux organismes transgéniques aux fins de recherche, ce qui comprend les études sur la régulation des gènes et la biologie du développement (voir Lin et al. 2016; Udvadia and Linney 2003). Les transgènes de protéines fluorescentes employés comme gènes rapporteurs neutres ont été utilisés avec des poissons pour la première en 1995, soit des poissons zèbres transgéniques dotés de la GFP (Amsterdam et al. 1995). L'utilisation de protéines fluorescentes transgéniques aux fins de recherche sur les poissons zèbres s'est largement répandue depuis et comprend l'emploi de multiples marqueurs fluorescents pour un seul poisson, comme pour marquer les cellules épithéliales avec des dizaines de marqueurs distinguables pour l'imagerie *in vivo* quantitative (Chen et al. 2016). Une recherche d'articles scientifiques de Web of Science

réalisée avec la chaîne de recherche de sujets [(eGFP or GFP or fluorescen*) and transgen* and (zebrafish or danio rerio)] faisait apparaître 1 546 articles (20 juillet 2017), ce qui démontrait l'utilisation répandue des transgènes fluorescents aux fins de recherche.

L'utilisation des poissons transgéniques fluorescents pour le commerce d'espèces d'ornement destinées aux aquariums a été approuvée pour la première fois en 2003, pour le poisson zèbre transgénique doté de la RFP (GloFish[MD]) offert par Yorktown Technologies aux États-Unis, sauf en Californie (voir Hill et al. 2011). Une version mise à jour du poisson zèbre doté de la RFP et d'autres variantes de couleur ont suivi pendant les années subséquentes (voir Hill et al. 2011; Howard et al. 2015). En 2012, aux États-Unis, sauf en Californie, un CGT2016, soit le tétra GloFish[MD] Electric Green[MD], a été approuvé et commercialisé pour la première fois, puis il a été suivi du tétra à longues nageoires GloFish[MD] Electric Green[MD] (qui est aussi un CGT2016) et d'autres variantes de tétra fluorescents. Deux variantes fluorescentes de barbus de Sumatra ont été introduites en 2014 (Howard et al. 2015), de même que deux variantes fluorescentes de labéos à queue rouge en 2017. En Californie, l'autorisation de vendre des GloFish[MD], y compris les variantes de CGT2016 à courtes et à longues nageoires, a été accordée en 2015 (California Fish and Game Commission 2015).

GloFish LLC demande une autorisation pour importer des CGT2016 des États-Unis au Canada pour le commerce d'espèces d'ornement destinées aux aquariums. Ce commerce est très populaire sur le plan international : plus de 6 000 espèces d'aquariums sont commercialisées et, selon les estimations, environ 6 milliards de poissons sont achetés annuellement (Teletchea 2016). Au Canada, ce commerce se traduit principalement par des importations. Le Canada a importé l'équivalent de 7,5 millions USD de poissons d'ornement en 2016, principalement des États-Unis (3,5 millions USD), suivi de Singapour (1,3 million USD), ainsi que d'autres parties de l'Asie, du Moyen-Orient, de l'Amérique du Sud et de l'Amérique centrale, de l'Afrique et de l'Europe. Le poids total de poissons importés en 2016 est inconnu pour le moment. En 2015, le Canada a importé plus de 104 000 kg de poissons d'ornement vivants, plus de la moitié d'entre eux provenant des États-Unis (54 600 kg). Le nombre exact de résidences où se trouvent de tels poissons est inconnu. Oliveira (2014) a signalé que 9 % des Canadiens détenaient « d'autres animaux domestiques », ce qui comprenait des poissons, des oiseaux, des petits mammifères et des reptiles, quoique d'autres rapports indiquent que 10 % des Nord-Américains possèdent des poissons d'ornement (Rixon et al. 2005), ce qui équivaut à environ 3,6 millions de Canadiens. *G. ternetzi* est un poisson courant du commerce canadien des espèces d'ornement destinées aux aquariums. Par exemple, Rixon et al. (2005) ont découvert que 75 % des animaleries de l'Ontario en vendaient.

1.6 CARACTÉRISATION DES ESPÈCES COMPARÉES

Aux fins de la présente évaluation, le tétra noir (*G. ternetzi*) sera comparé à l'organisme déclaré. Seront considérés comme des variantes et des synonymes de tétra noir tous les noms communs suivants : tétra noir, tétra blanc, veuve noire, tétra à jupe noire, tétra à jupe blanche, tétra noir à longues nageoires et tétra blanc à longues nageoires (voir la section 1.6.2, figure 1.3). C'est un petit poisson tropical d'une longueur maximale de 7,5 cm atteignant généralement seulement 6 cm dans un aquarium (Innes 1950; Mills and Vevres 1982). Il provient de l'Amérique du Sud et a été domestiqué pour le commerce d'espèces d'ornement

destinées aux aquariums dans le monde entier (Teletchea 2016). La plus grande partie de l'information accessible sur le tétra noir provient du commerce d'espèces d'ornement destinées aux aquariums et ce sont surtout des informations anecdotiques sur les préférences des *G. ternezti* d'aquariums de particuliers, plutôt que des études scientifiques sur son habitat ou ses besoins pour survivre dans la nature.

1.6.1 Taxonomie

Le tétra noir (*G. ternetzi*) a été décrit pour la première fois en 1895 par le zoologiste belgo-britannique George Albert Boulenger qui l'a nommé *Tetragonopterus ternetzi* en étudiant plusieurs spécimens provenant de Descalavados, au Brésil (Benine et al. 2015; Boulenger 1895). Carl Eigenamm l'a renommé *Gymnocorymbus ternetzi* en 1910 (Benine et al. 2015). En tant que téléostéen de l'ordre des characiformes, le tétra noir fait partie de l'une des familles les plus problématiques et variées (sur le plan taxonomique), soit celle des characidés (Benine et al. 2015; Oliveira et al. 2011). Comptant près de 1 100 espèces en Amérique centrale, en Amérique du Sud, au Mexique et au Sud des États-Unis (Frankel 2004; Oliveira et al. 2011), ce groupe représente plus de la moitié des espèces de characiformes et c'est le taxon pour lequel il y a le plus de nouvelles descriptions d'espèces, ce qui le complexifie encore plus (Boulenger 1895; Oliveira et al. 2011). En raison de l'ampleur de la diversité du groupe, une grande partie du genre des characidés est inconnue ou n'a pas de description officielle. Benine et al. (2015) ont prouvé en faisant des essais moléculaires qu'il fallait faire une révision sur le plan taxonomique et leurs résultats soutiennent que le genre *Gymnocorymbus* est monophylétique, celui-ci comprenant quatre espèces valides, y compris le *G. ternetzi*.

Les origines de l'élevage du tétra noir pour le commerce d'espèces destinées aux aquariums remontent à au moins 1950 (Innes 1950). Les variantes blanches, avec ou sans nageoires longues, ont été produites en sélectionnant des caractéristiques naturelles pour ce commerce (p. ex., Axelrod and Vorderwinkler 1976).

1.6.2 Aire de répartition

L'aire de répartition indigène connue de *G. ternetzi* est le bassin fluvial Rio Paraguay en Amérique du Sud. On pense que les populations avoisinantes des systèmes du haut Rio Paraná et du Rio Paraíba do Sul (Benine et al. 2015) ainsi que du delta de l'Amazone, ce qui comprend les réseaux de la Paraquai et de la rio Negro (Brysiewcz et al. 2009), ont été introduites et ne sont pas indigènes.

1.6.3 Habitat

Les origines subtropicales du tétra noir de l'Amérique du Sud font que ce poisson préfère les eaux douces chaudes (Exotic Aquariums 2009; Jones 2016). Les sites Web sur les poissons d'ornement d'aquariums décrivent celui-ci comme une espèce au caractère peu exigeant pouvant s'adapter à une variété de conditions (Sharpe 2016). Ce sont de petits poissons qui vivent dans des eaux où se trouvent des prédateurs et ils ont donc tendance à se cacher (Exotic Aquariums 2009). Ils sont habitués à vivre dans les grandes plantes de leur environnement naturel leur permettant de se dissimuler (Exotic Aquariums 2009; Fish Channel

2015). Ces plantes sont souvent en suspension dans l'eau le long des berges des ruisseaux, des affluents et des cours d'eau à débit faible, ainsi que dans les eaux stagnantes et les mares (Brysiewcz et al. 2009; Seriously Fish 2016). Les juvéniles et les adultes ont été observés ensemble dans des macrophytes de lacs de bras-mort des plaines inondables du Brésil, étant plus abondants pendant la saison sèche que durant la saison humide, ainsi qu'en compagnie d'autres petites espèces des écosystèmes lentiques et de juvéniles de grandes espèces migratrices et non migratrices (Meschiatti et al. 2000).

Dans l'avis, l'habitat est décrit de la façon suivante :

« Dans la nature, il est associé aux plantes à racine des eaux douces à faible débit, comme les lacs de bras-mort (Meschiattia, Arcifaa et Fenerich-Veranib, 2000). Les rayures semblent l'aider à éviter la prédation dans ces conditions (Frankel, 2004).

Dans son habitat indigène, cette espèce vit dans les eaux douces à faible débit relativement fraîches (22 à 24 °C) qui sont brunes, mais limpides et légèrement acides (pH de 5,5 à 6,3) [Sakurai, Sakamato et Mori, 1992]. Il atteint environ 5 cm de longueur à maturité, est omnivore et se nourrit de vers de terre, d'insectes et de petits crustacés planctoniques dans la nature (Mills et Vevers, 1989). »

1.6.4 Tolérances physiologiques

1.6.4.1 Oxygène

Il n'y a aucun document disponible sur les préférences ou les tolérances du tétra noir en matière de teneur en oxygène dissous du tétra noir.

1.6.4.2 Température

Il n'existe aucune étude formelle connue sur les exigences de température minimale et maximale du tétra noir. Les gens du commerce d'espèces destinées aux aquariums pensent que les tétras noirs préfèrent des températures légèrement inférieures à ce que les autres tétras ou poissons tropicaux avec lesquels ils vivent habituellement préfèrent (Aqua-Fish Net 2005) et ils sont connus pour leur rusticité et peuvent tolérer une température ambiante normale de 20 à 26 °C (AC Tropical Fish 2016; Aqua-Fish Net 2005). Toutefois, des plages plus restreintes ont aussi été proposées (p. ex., 23 à 25 °C, Brysiewcz et al. 2009; 23 à 26 °C, Scheurmann 1990 et Mills and Vevres 1982; 22 à 24 °C, Sakurai et al. 1992) afin d'assurer une santé optimale, bien que Frank (1980) suggérait qu'il pouvait survivre si la température était de 16 °C. Il n'existe aucune publication sur la température maximale et minimale de reproduction du tétra noir, mais les plages et températures recommandées sont 27 °C (Axelrod and Vorderwinkler 1976) et 27 à 29 °C (Uma and Chandran 2008). Leggatt et al. (2018) ont examiné la tolérance aux températures inférieures du tétra blanc lorsqu'il est exposé à une réduction graduelle de température (1 °C par jour), en commençant à 20 °C, et a constaté que le poisson ne pouvait plus s'acclimater à 9,95 ± 0,03 °C. GloFish LLC a indiqué la tolérance aux températures inférieures des variantes blanches de *G. ternetzi* lorsqu'elles sont exposées à une baisse soudaine de température et a découvert qu'elles meurent lorsque la température atteint 7,84 ± 0,05 °C. L'écart entre les deux études est probablement causé par des différences entre

les taux de variation de température. Lorsqu'il est plus faible, les poissons peuvent s'acclimater, mais le refroidissement de température peut causer plus d'effets nocifs en raison de sa période prolongée (Beitinger et al. 2000). Dans le cas présent, la deuxième conséquence explique probablement pourquoi la température minimale tolérée est plus élevée lorsque la température varie lentement (Leggatt et al. 2018) et ce changement lent représente peut-être de façon plus précise la température minimale à laquelle le tétra blanc peut survivre pendant l'hiver.

1.6.4.3 pH

Les tétras noirs préfèrent les eaux douces acides (Jones 2016; Sharpe 2016). Ceci dit, ces poissons sont capables de tolérer un pH de 5,0 à 8,5 (AC Tropical Fish 2016; Brysiewcz et al. 2009; Luna and Reyes 2016) et Gonzalez et al. (1997) ont constaté qu'ils peuvent rétablir l'équilibre ionique lorsqu'ils sont exposés à un pH de 4,5, mais ce n'est pas le cas lorsqu'il est de 4,0.

1.6.4.4 Salinité

Il n'y a aucun document sur les préférences ou les tolérances du tétra noir en ce qui concerne la salinité, bien que Rothen et al. (2002) aient découvert que le taux de mortalité des larves vésiculées est extrêmement élevé lorsqu'elles sont exposées à un traitement au sel à 1 et à 3 parties par billion, mais très faible pour les larves nageuses, ce qui indique que la tolérance au sel peut varier en fonction du stade biologique.

1.6.4.5 Morphologie, historique et croissance

Le tétra noir est gris, deux bandes noires verticales voyantes se trouvant derrière l'opercule (Frankel 2004; Jones 2016; Sharpe 2016). Les couleurs des juvéniles sont plus brillantes et elles se ternissent à mesure qu'ils prennent de l'âge pour devenir gris argent (AC Tropical Fish 2016; Brysiewcz et al. 2009; Exotic Aquariums 2009). En outre, la souche de la variante blanche a été créée pour le commerce d'espèces destinées aux aquariums en faisant de l'élevage sélectif avec des phénotypes naturels plus pâles sans bandes (Frankel 2004, voir la figure 1.3). La population générale comporte aussi des variantes noires et blanches naturelles à longues nageoires. L'élevage sélectif permet de produire ces variantes pour ce commerce (Axelrod and Vorderwinkler 1976, voir la figure 1.3). *G. ternetzi* est un poisson relativement petit. Dans un aquarium, sa longueur normale va de 4 à 6 cm, alors que dans la nature elle peut atteindre 7,5 cm (Brysiewcz et al. 2009; Çelik et al. 2012; Innes 1950; Luna and Reyes 2016; Nico and Fuller 2017). Sa durée de vie va de 3 à 6 ans, mais elle peut être prolongée si le poisson se trouve dans un aquarium et si les conditions demeurent idéales pour la survie (Aqua-Fish Net 2005).

Tous les juvéniles du tétra noir passent par un stade de développement où ils sont des femelles, bien que le développement des ovaires et des testicules commence 42 jours après la fécondation (Mazzoni et al. 2015). À maturité, des différences morphologiques discernables permettent de distinguer les mâles des femelles. Au stade adulte, les mâles sont plus minces et petits de façon globale que les femelles dont le ventre est plus rond (Brysiewcz et al. 2009; Seriously Fish 2016; Sharpe 2016). La nageoire anale du mâle est plus large, sa nageoire dorsale est plus mince et effilée que celle des femelles et sa nageoire caudale est parfois dotée de points blancs (AC Tropical Fish 2016; Jones 2016; Sharpe 2016). Benine et al. 2015 ont

aussi observé une paire de petits crochets se trouvant sur les cinq à huit premiers rayons de la nageoire anale, ceux-ci étant absents pour les femelles. À l'endroit où l'extrémité avant de la nageoire anale est parallèle à la deuxième bande verticale ornant l'abdomen, les rayures varient, ce qui est une deuxième caractéristique discernable des femelles (AC Tropical Fish 2016; Jones 2016).

Il existe des renseignements contradictoires sur l'âge de maturité sexuelle des tétras noirs, de nombreux rapports indiquant qu'il va de 1 à 2 ans (AC Tropical Fish 2016; Brysiewcz et al. 2009; Sharpe 2016). Dans le cadre d'une étude sur le développement des gonades, Mazzoni et al. (2015) ont noté que la première maturation des gonades se produit entre 150 et 180 jours après la fécondation (5 à 6 mois) et GloFish LLC affirme que les stocks de géniteurs de tétras noirs atteignent la maturité sexuelle en 4 à 5 mois en fonction de la saison et de la densité d'empoissonnement. Une fois matures, les tétras sont en général des reproducteurs prolifiques capables de doubler leur population en environ 15 mois dans un environnement contrôlé et les femelles peuvent se reproduire tous les 10 à 14 jours (AC Tropical Fish 2016; Jones 2016). Toutefois, dans la nature, la production de larves est fortement liée à l'abondance de zooplancton et la biomasse qui en résulte n'est normalement pas suffisante pour soutenir de telles quantités de larves, ce qui limiterait probablement la croissance de la population (Sarma et al. 2003).

Quoiqu'il y ait peu d'études sur la reproduction et le développement initial des tétras noirs, les techniques de reproduction de poissons dans des aquariums sont le meilleur équivalent qui ont permis d'atténuer le manque d'information sur les tétras noirs sauvages. Les poissons de cette espèce dispersent leurs œufs et se reproduisent avec succès lorsqu'ils se trouvent dans des aquariums avec une grande densité de plantes à feuilles fines comme de la mousse de Java, les œufs adhésifs étant déposés entre les feuilles (AC Tropical Fish 2016; Jones 2016). Les œufs et les alevins sont sensibles à la lumière pendant les stades initiaux (Seriously Fish 2016). Les mâles se taillent généralement un territoire et le protègent pendant le frai et le nombre d'œufs déposés peut atteindre 2 000 (AC Tropical Fish 2016; Brysiewcz et al. 2009; Jones 2016). Il a été relevé que le frai se déroule tôt le matin pour les tétras, ce qui indique que leur cycle de reproduction est diurne (Çelik et al. 2012; Seriously Fish 2016). Dans un aquarium, les adultes mangent souvent des œufs, mais il reste à découvrir si leurs semblables sauvages adoptent le même comportement (Seriously Fish 2016; Sharpe 2016).

Le développement morphologique des tétras noirs est similaire à celui des poissons zèbres (Kimmel et al. 1995), bien que le développement embryonnaire se déroule environ deux fois plus rapidement jusqu'au stade d'éclosion, la première division cellulaire se produisant après 30 minutes seulement (Pan et al. 2008). Les œufs éclosent après 20 à 24 h (AC Tropical Fish 2016; Kimmel et al. 1995; Sharpe 2016) et les embryons demeurent fixés aux parois de l'aquarium pendant les 5 à 6 prochains jours avant de remplir leur vessie natatoire et de chasser (Frank 1980).

1.6.4.6 Bagage génétique

Il n'y a aucun document disponible sur le bagage génétique du tétra noir. Toutefois, le tétra noir a été produit spécifiquement pour les aquariums de particuliers avant 1950 (Innes 1950), ce qui

comprend l'élevage sélectif des variantes naturelles blanches ou à longues nageoires, et Teletchea (2016) a indiqué que le tétra noir avait atteint le niveau de domestication le plus élevé pour les poissons d'aquarium.

1.6.4.7 Historique en matière de caractère envahissant

On pense que les tétras noirs ont été introduits à l'extérieur de leur aire de répartition indigène dans le haut Rio Paraná, le Rio Paraíba do Sul (Benine et al. 2015) et le bassin de l'Amazone, en Amérique du Sud (Brysiewcz et al. 2009). Ont aussi été signalées des populations de poissons d'ornement établies introduites en Colombie (Welcomme 1992), des populations établies temporairement dans une source thermale du Colorado et des présences isolées de tétras noirs en Floride et en Louisiane (Nico and Fuller 2017; Tuckett et al. 2017), mais aucune population établie n'a été signalée dans les régions aux climats tempérés (États-Unis et Europe, Brysiewcz et al. 2009) depuis que c'est un poisson d'ornement d'aquarium, soit au moins 70 ans.

1.6.4.8 Interactions trophiques (régime alimentaire, proies, concurrents, prédateurs)

Comme la plupart des poissons, la survie du tétra noir dépend de la disponibilité de nourriture appropriée pendant les quelques premières semaines critiques après l'éclosion (May 1974). Les ciliés, les rotifères, les cladocères et les copépodes (quatre zooplanctons) sont la nourriture naturelle de nombreux poissons d'ornement d'aquarium et les tétras noirs ne font pas exception (Sarma et al. 2003). Les tétras noirs vivent normalement dans les couches d'eau centrales et supérieures, sont principalement carnivores et mangent des vers de terre, de petits crustacés et des insectes facilement accessibles (Galib 2011). Toutefois, ce n'est pas une espèce très sélective et elle consomme aussi de plus petites quantités d'algues et de plantes (AC Tropical Fish 2016; Lim 2008). Pour les poissons d'aquarium, il est recommandé aux amateurs de diversifier le régime alimentaire des tétras noirs et de leur faire manger des daphnies et des larves de moustiques ainsi que des artémies et des vers de vase congelés (AC Tropical Fish 2016; Seriously Fish 2016; Sharpe 2016). Ils vont aussi manger sans réticence des produits commerciaux comme des flocons, et les spirulines sont un supplément courant pour les organismes d'aquarium (AC Tropical Fish 2016; Sharpe 2016).

Il reste à découvrir si les concurrents et les prédateurs du tétra noir ont été décrits de façon spécifique, bien que le bassin de la rivière Paraquay comporte des concurrents potentiels comme d'autres espèces de tétras ainsi que des prédateurs potentiels comme divers piranhas, le poisson-loup et le *Salminus brasiliensis* (dourado) [Hales et Petry, Freshwater Ecoregions of the World]. Meschiatti et al. (2000) ont décrit les tétras noirs comme des organismes faisant partie de communautés de poissons associés à des macrophytes de lacs de bras-mort, celles-ci étant principalement constituées d'espèces de petite taille courantes dans les environnements lentiques (p. ex., le tétra noir), de juvéniles de grandes espèces non migratrices et de quelques juvéniles d'espèces migratrices. Ils sont généralement décrits comme des poissons de « communautés d'aquarium » et ne sont habituellement pas agressifs ou compétitifs à l'égard des autres espèces de poissons d'aquarium quoiqu'ils puissent manger des poissons beaucoup plus petits (Frank 1980).

1.7 CARACTÉRISATION DU MILIEU RÉCEPTEUR POTENTIEL

Le milieu d'eau douce canadien comprend des milliers de lacs et de rivières, disséminés dans des centaines de bassins hydrographiques qui couvrent l'ensemble des 9,9 millions de kilomètres carrés du territoire, et les climats vont d'un climat tempéré à un climat polaire. Ces cours d'eau et plans d'eau présentent des volumes, des profondeurs, des vitesses du courant, des caractéristiques géologiques et géomorphologiques, des propriétés chimiques et physiques ainsi qu'une productivité globale très variables. Les lacs du Canada ont une productivité très variable allant de faible à élevée (très oligotrophe à très eutrophe) en fonction des conditions de leur emplacement.

Les milieux récepteurs potentiels de poissons d'ornement au Canada comprennent l'ensemble des sources, cours d'eau, étangs, rivières, lacs et réservoirs d'eau douce. Même si cela peut englober un énorme éventail de possibilités et de scénarios, la faiblesse des températures de l'eau au Canada, par rapport à celles que l'on constate dans les régions d'origine des espèces de poissons d'ornement, limitera considérablement les capacités des poissons tropicaux d'eau douce d'ornement à survivre dans l'environnement canadien. La température de l'eau est un facteur abiotique clé ayant des répercussions tant sur la survie que sur la reproduction de la plupart des populations de poissons d'eau douce, et il s'agit d'un déterminant puissant du caractère propice d'un habitat (Amiro 2006; Elliott and Elliott 2010; Jobling 1981; Magnuson et al. 1979).

Les lacs canadiens peuvent être catégorisés en quatre types séparés : amictiques, monomictiques, dimictiques et méromictiques. Les lacs amictiques se trouvent à des altitudes et à des latitudes élevées et ils sont couverts de glace tout au long de l'année. La plupart des lacs canadiens sont holomictiques, c'est-à-dire que leur eau se mélange entièrement au moins une fois par année, lorsqu'une couche de surface dense de 4 °C descend jusqu'au fond du lac, ce qui envoie l'eau du fond vers la surface tout en mélangeant le tout (figure 1.4). Les lacs monomictiques sont des lacs holomictiques dont les couches se mélangent une fois par année seulement tandis que celles des lacs dimictiques et polymictiques se mélangent deux fois ou plus par année.

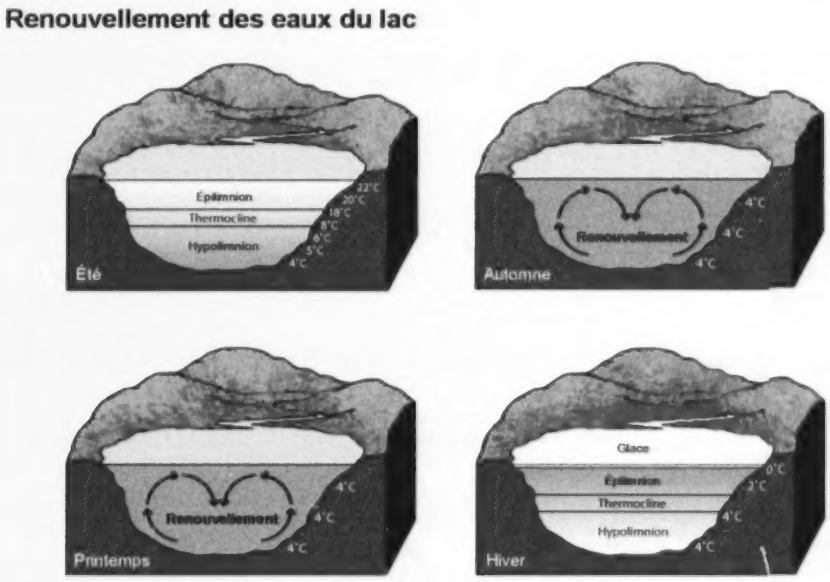

***Figure 1.4** : Exemple de répercussions du renouvellement sur la température d'un lac (National Geographic: Lake Turnover (renouvellement des eaux d'un lac)).*

L'un des lacs canadiens les plus chauds en hiver est le lac Cowichan, lac monomictique de l'île de Vancouver (C.-B.), la température de l'eau du lac en hiver allant de 5,8 à 6,8 °C (données de BCLSS 2014 et du réseau de surveillance environnementale du gouvernement de la Colombie-Britannique, voir figure 1.5a). Comme plusieurs autres lacs côtiers de cette province, le lac Cowichan est monomictique, les couches de température formant des strates permanentes sauf en hiver, lorsque toute l'eau du lac se mélange à une température de 4 °C ou plus (renouvellement d'hiver). La surface de ce lac est rarement glacée et est normalement navigable en hiver.

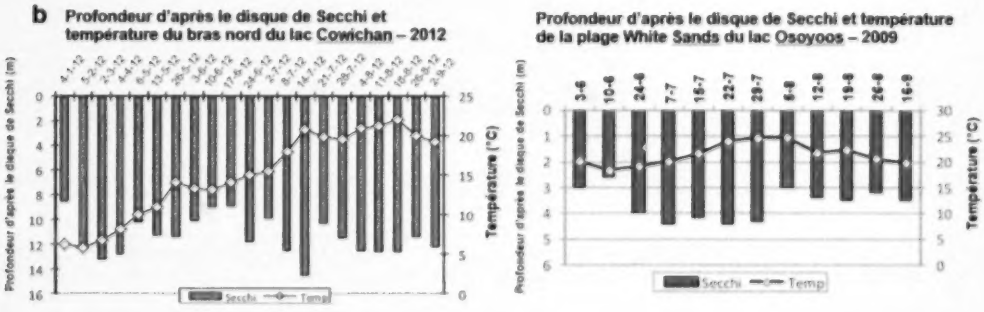

Figure 1.5 : Exemples de lacs canadiens a) Température d'eau relativement chaude en hiver (lac Cowichan, BCLSS 2014) b) Température d'eau chaude en été (lac Osoyoos, BCLSS 2013).

De nombreux autres lacs aux eaux chaudes se trouvent à l'intérieur de la C.-B., le lac Osoyoos étant l'un des plus chauds. C'est un lac dimictique dont la température demeure dans une plage idéale pour les tétras (20 à 26 °C) pour la plus grande partie de l'été (BCLSS 2013, voir la figure 1.5b). En plus, la température maximale de nombreux autres lacs étudiés se trouve à l'intérieur de cette plage (voir la figure 1.6), bien que celle-ci puisse ne pas nécessairement atteindre de telles valeurs pendant une grande partie de l'été. Pour le lac Osoyoos, les températures froides d'hiver de l'intérieur de la C.-B. font que celui-ci, comme la plupart des lacs de l'intérieur de cette province et du reste du Canada, est dimictique, la colonne d'eau demeurant stratifiée pendant l'été et l'hiver, mais deux renouvellements se produisent lorsque sa température est de 4 °C, au printemps et à l'automne, l'eau la plus chaude (4 °C ou moins) formant une strate au fond du lac en hiver (figure 1.4).

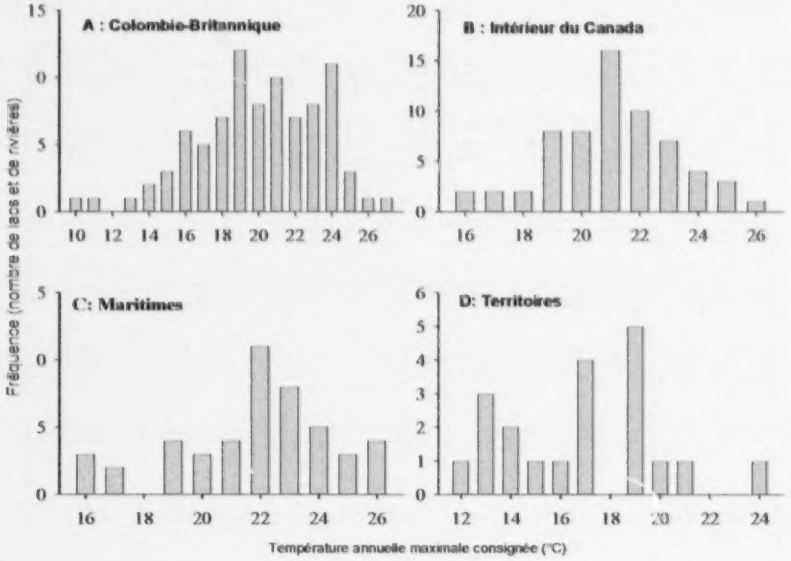

Figure 1.6 : *Nombre de rivières et de lacs du Canada étudiés atteignant diverses températures maximales pendant l'été (Leggatt and Devlin (2006)).*

Pour les lacs dimictiques et monomictiques, le mélange de la colonne d'eau transporte des nutriments situés au fond du lac vers le haut de celle-ci, un événement écologique important qui se produit lorsque l'eau de surface lourde (dense), à une température de 4 °C, descend jusqu'au fond du lac, ce qui élimine les strates. Pendant le renouvellement, la température de l'eau demeure à 4 °C jusqu'à ce que les températures de l'eau supérieures ou inférieures à cette valeur prennent le dessus, et la colonne redevient stratifiée. En conséquence, bien que les profils de la température annuelle des nombreux lacs et rivières du Canada varient, tout comme les températures minimales et maximales moyennes, la plupart descendent à une température de 4 °C ou moins, à un moment ou à un autre de l'année (Leggatt et al. 2018, voir la figure 1.7), et seuls quelques lacs isolés dans le Sud de la région côtière de la Colombie-Britannique affichent des températures minimales supérieures à cette température (aucune de ces

températures n'est inférieure à 6 °C lorsqu'elle est mesurée sur plusieurs années, voir Leggatt et al. 2018). Ainsi, si un poisson introduit ne peut pas survivre à 4 °C ou moins, sa présence dans le milieu canadien sera, au mieux, saisonnière, avec de possibles poches localisées pouvant passer l'hiver pour les organismes qui peuvent survivre à des températures allant de 4 et 6 °C.

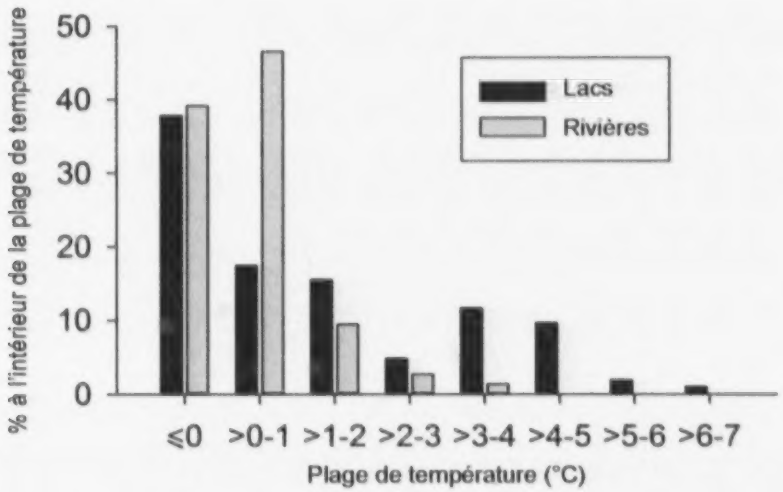

***Figure 1.7** : Pourcentage de lacs et rivières étudiés dont la température minimale en hiver est à l'intérieur des diverses plages (Leggatt et al. (2018)).*

De nombreux réseaux hydrographiques d'eau douce peuvent présenter une certaine hétérogénéité dans leurs profils de la température. Par exemple, les régions côtières des lacs peuvent subir des températures plus extrêmes que leurs régions centrales (Trumpickas et al. 2015), ou encore les contributions des eaux souterraines peuvent faire monter ou baisser les températures dans des zones localisées au sein d'un plan d'eau. Bien que ce phénomène de microhétérogénéité des profils de températures soit connu, il n'a pas été parfaitement caractérisé pour les environnements aquatiques canadiens. En outre, la température de plus de quarante sources thermales canadiennes est supérieure aux températures ambiantes. Une grande partie d'entre elles ont été grandement aménagées pour que l'être humain puisse s'en servir ou leur température est plus élevée qu'une température d'eau type de région tropicale (p. ex., au-dessus de 40 °C). La température d'autres sources thermales canadiennes est modérément chaude (p. ex., la température de la source thermale de Rabbit Kettle de la réserve du parc national du Canada Nahanni des Territoires du Nord-Ouest est de 20 °C tout au long de l'année et le gradient de température des sources thermales approvisionnant des réseaux hydrographiques environnants peut englober les plages de températures idéales pour la persistance des poissons tropicaux. En outre, les effluents industriels d'eau chaude (p. ex., centrales électriques) peuvent former des zones de refuge pour les espèces devant vivre à une température plus élevée que la température ambiante (p. ex., Gozlan et al. 2010).

Selon les prévisions, les changements climatiques auront des conséquences à long terme sur les profils de température des réseaux hydrographiques d'eau douce de l'Amérique du Nord. Il devrait y avoir une augmentation de la température de l'eau de surface, une hausse de la profondeur des thermoclines pendant le phénomène de stratification d'été et une augmentation du nombre de jours sans glace en hiver (p. ex., Missaghi et al. 2017; Santiago et al. 2017; Trumpickas et al. 2015) Les répercussions sur les réseaux hydrographiques individuels devraient varier, en fonction de facteurs comme les processus hydrologiques (p. ex., Ficklin et al. 2014, Santiago et al. 2017), les emplacements à l'intérieur des lacs (p. ex., près des côtes, eaux profondes, élévation, Mountain Research Initiative EDW Working Group 2015; Trumpickas et al. 2015) et la morphologie des lacs (p. ex., Kraemer et al. 2015). Les augmentations de température maximale devraient être plus importantes que celles de températures minimales (Ficklin et al. 2014; Trumpickas et al. 2015). En conséquence, il faut considérer l'évolution des profils de température à long terme et de façon locale pour les évaluations du risque environnemental posé par de nouveaux organismes, celle-ci pouvant contribuer à l'incertitude de ces évaluations.

1.8 SOMMAIRE

Dans le contexte législatif de la LCPE et des exigences d'information requise de l'annexe 5 du RRSN(O), le présent document définit le cadre de l'évaluation du risque potentiel pour l'environnement canadien associé à l'importation ou à la production de poissons génétiquement conçus. L'évaluation du risque environnemental est réalisée conformément au paradigme traditionnel d'évaluation du risque où ce dernier est directement lié au potentiel d'exposition et au danger posé par l'organisme. L'évaluation d'exposition est fondée sur la probabilité et l'ampleur d'une introduction dans l'environnement ainsi que les chances et le degré de survie, de reproduction, d'établissement et de dissémination de l'organisme et de ses descendants potentiels dans l'environnement canadien. L'évaluation des dangers met l'accent sur le potentiel d'influence de l'organisme sur : (1) les proies, les prédateurs et les concurrents potentiels de l'organisme; (2) la diversité biologique; (3) l'habitat. Le niveau d'incertitude pour l'exposition et le danger est évalué en fonction des conséquences sur l'évaluation finale du risque. Le MPO fournit à ECCC un avis scientifique sous la forme d'évaluations du risque environnemental examinées par les pairs pour les décisions réglementaires prises en vertu de la LCPE fondées sur l'évaluation du risque environnemental et l'incertitude associée aux conclusions.

PARTIE 2 : ÉVALUATION DU RISQUE ENVIRONNEMENTAL

2.1 OBJET DE LA PARTIE 2

La partie 2 de ce document comprend l'évaluation du risque environnemental réalisée en vertu de la LCPE pour le CGT2016, variante blanche du tétra noir (*Gymnocorymbus ternetzi*) génétiquement conçue déclarée par GLoFish LLC en vertu du RRSN(O).

L'évaluation du risque environnemental du CGT2016, aussi connu sous le nom de tétra GloFish[MD] Electric Green[MD] et de tétra à longues nageoires GloFish[MD] Electric Green[MD] a été examinée par les pairs et réalisée à l'intérieur de la période de 120 jours définie par le RRSN(O) pour les avis remis conformément à l'annexe 5.

Pour de plus amples renseignements sur la LCPE et le RRSN(O), y compris des directives relatives au règlement, des indications détaillées sur l'information requise, l'obtention de dispenses, les nouvelles activités, les résultats des évaluations du risque et la gestion du risque, consulter la page du site Web d'ECCC sur la biotechnologie Substances nouvelles : biotechnologie, organismes vivants ou la section de la définition du problème de la partie 1 du document.

2.2 ÉVALUATION DE L'EXPOSITION

« Dans le cadre d'une étude de 2005 sur les espèces aquatiques potentiellement envahissantes offertes sur le marché des espèces d'aquarium au Canada, G. ternetzi *ne fait pas partie de la liste des espèces envahissantes en raison de son incapacité à survivre pendant l'hiver au Canada et d'un historique ne semblant pas indiquer que c'est une espèce envahissante (Rixon, Duggan, Bergeron, Ricciardi et Macissac, 2005). »* (Extrait de l'avis pour le CGT2016.)

L'évaluation de l'exposition pour le CGT2016 aborde tant la probabilité de le voir pénétrer dans l'environnement (introduction) que son devenir une fois dans ce dernier. La probabilité et l'ampleur de l'exposition environnementale sont déterminées par l'intermédiaire d'une évaluation approfondie du berceau à la tombe qui détaille les potentiels d'introduction, de survie, de persistance, de reproduction, de prolifération et de dissémination de l'organisme dans l'environnement canadien. La figure 2.1 illustre de quelle façon, pour chaque étape de cette évaluation, le potentiel que le nombre d'organismes dans l'environnement augmente s'accroît. Elle aide aussi à montrer que la probabilité que l'organisme soit présent pendant chaque étape de la voie d'exposition dépend de la probabilité qu'il le soit lors de l'étape précédente. Par exemple, si un organisme a peu de chances de survivre au Canada, il est peu probable qu'il se reproduise ou qu'il prolifère.

Tous les renseignements pertinents sur les stratégies de confinement physique, biologique et géographique pour tous les stades biologiques, et le potentiel d'exposition entraîné par une défaillance de confinement pendant le transport, la distribution et l'utilisation de l'organisme doivent être évalués, de même que le potentiel d'une introduction accidentelle causée par une erreur humaine ou une défaillance d'équipement et celui d'une introduction délibérée pouvant être réalisée pour des raisons culturelles ou autres. Pour évaluer le potentiel de reproduction et

de prolifération du CGT2016 au Canada, il faut considérer la capacité de reproduction de l'organisme et de ses descendants potentiels, la stabilité des systèmes de détermination de sexe du CGT2016 et l'influence de la pression des propagules sur la présence du poisson. Les niveaux de probabilité d'exposition de l'environnement canadien sont présentés au tableau 2.1.

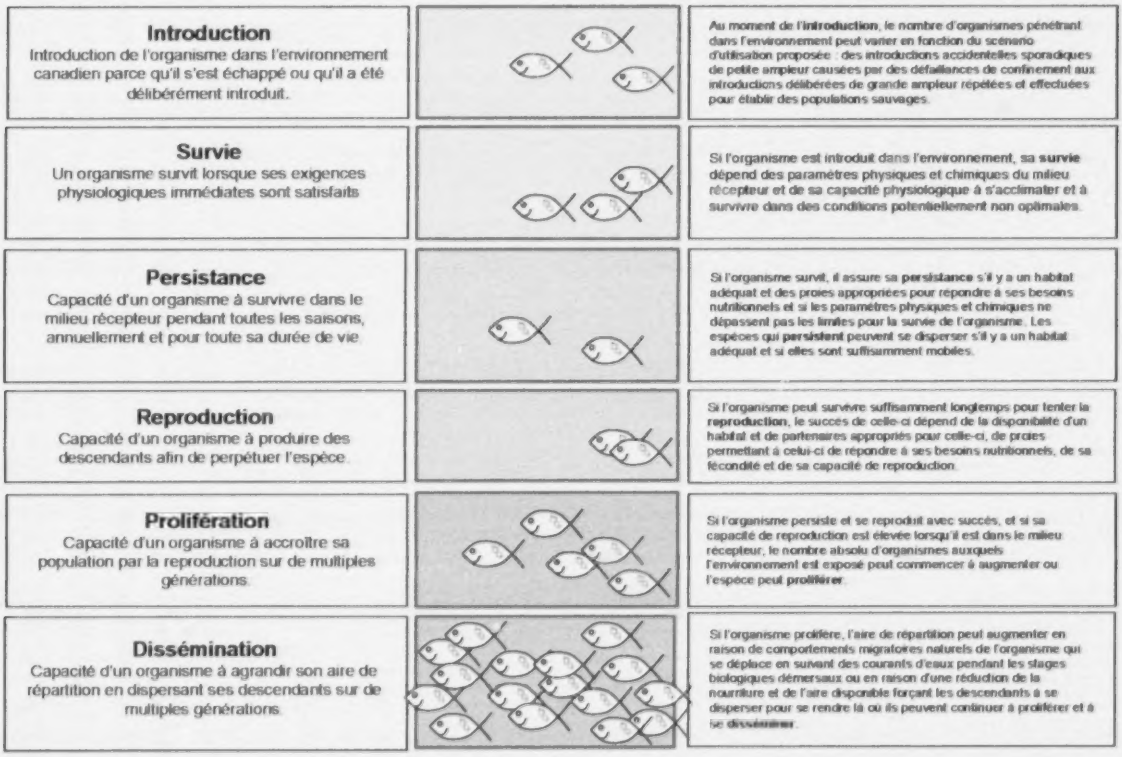

***Figure 2.1** : Voie d'exposition – La probabilité liée à chaque étape est limitée par la probabilité associée à l'étape précédente.*

***Tableau 2.1** : Niveaux d'exposition de l'environnement du Canada au CGT2016*

Classement de l'exposition	Évaluation
Probabilité négligeable	Aucune présence, aucune observation
Probabilité faible	Présence rare, isolée ou éphémère
Probabilité modérée	Présence fréquente, mais seulement à certaines périodes de l'année ou dans des régions isolées
Probabilité élevée	Présence fréquente tout au long de l'année et dans des régions diffuses

En raison du statut réglementaire de tout poisson génétiquement conçu étudié dans le cadre d'une évaluation du risque environnemental réalisée en vertu de la LCPE, des données empiriques insuffisantes sur la survie, la valeur adaptative et la capacité de reproduction du CGT2016 dans l'environnement naturel contribueront à l'incertitude de l'évaluation de l'exposition. L'incertitude associée au devenir d'un organisme ou à une défaillance de confinement biologique ou géographique peut dépendre de la disponibilité et de la validité de l'information scientifique liée aux paramètres biologiques et écologiques de l'organisme, des espèces comparables valides et du milieu récepteur. Des lacunes dans les connaissances ou une insuffisance en matière de données empiriques sur la survie, la valeur adaptative et la capacité de reproduction du CGT2016 dans l'environnement contribueront aussi à l'incertitude de l'évaluation de l'exposition. Le tableau 2.2 présente un classement du niveau d'incertitude associé à la probabilité de présence de l'organisme et à son devenir dans l'environnement canadien.

Tableau 2.2 : *Classement du niveau d'incertitude associé à la probabilité de présence de l'organisme et à son devenir dans l'environnement canadien (exposition de l'environnement)*

Classement du niveau d'incertitude	**Renseignements disponibles**
Négligeable	Données de grande qualité à propos de l'organisme (p. ex., stérilité, tolérance aux températures, valeur adaptative). Données relatives aux paramètres environnementaux du milieu récepteur et au point d'entrée. Preuve de l'absence d'effets génotype-environnement ou parfaite compréhension de ces derniers dans les différentes conditions environnementales pertinentes. Signes d'une faible variabilité.
Faible	Données de grande qualité sur des organismes proches ou des substituts valides. Données relatives aux paramètres environnementaux du milieu récepteur. Compréhension des effets génotype-environnement potentiels dans les différentes conditions environnementales pertinentes. Signes de variabilité.
Modéré	Données limitées sur l'organisme, les organismes proches ou les substituts valides. Données limitées concernant les paramètres environnementaux du milieu récepteur. Lacunes dans les connaissances. Dépendance à l'égard de l'historique de l'utilisation ou l'expérience avec des populations dans d'autres zones géographiques présentant des conditions environnementales semblables ou meilleures qu'au Canada.
Élevé	Importantes lacunes dans les connaissances. Dépendance importante à l'égard de l'opinion des experts.

2.2.1 Probabilité d'introduction

Bien que le but soit de vendre ces organismes sur le marché des poissons d'ornement et que la plupart des amateurs qui achètent le produit respectent les instructions d'élimination recommandées du détaillant ou de la compagnie elle-même, il y a de fortes chances qu'un CGT2016 soit introduit, tôt ou tard, dans l'environnement canadien. De nombreuses populations de poissons d'aquarium se sont établies dans les eaux naturelles de l'Amérique du Nord et des rapports de présences isolées de poissons d'aquarium dans les eaux canadiennes indiquent que la pratique d'introduire ces poissons dans l'environnement est courante et continuelle (Dumont et al. 2002). À la fois Rixon et al. (2005) et Kerr et al. (2005) pointent du doigt l'industrie des amateurs d'aquarium comme une source importante d'introduction d'organismes aquatiques exotiques dans le bassin des Grands Lacs. Strecker et al. (2011) estiment qu'environ 2 500 poissons sont introduits annuellement dans la région de Puget Sound, dans le Pacific Northwest, par les détenteurs d'aquariums, et une étude sur les propriétaires de poissons d'aquarium de l'Ontario indiquait que 2 % des poissons d'ornement d'aquariums non désirés sont introduits dans l'environnement (Marson et al. 2009). Une fois l'organisme vendu à un détaillant, il n'est plus sous le contrôle direct de l'importateur et aucune garantie ne peut être apportée quant au caractère approprié du confinement et de l'élimination par la suite. En conséquence, il est pertinent d'évaluer le CGT2016 comme si tous les individus étaient introduits dans la nature. La mesure dans laquelle l'environnement sera par la suite exposé à l'organisme dépendra fortement de sa capacité à survivre et à se reproduire dans les rivières et les lacs canadiens. L'ampleur de chaque cas d'introduction devrait être très faible, même si la possibilité de plus grandes introductions liées à des achats de plus grande ampleur ou à la reproduction de CGT2016 dans des aquariums de particuliers ne peut pas être écartée.

L'élimination des carcasses du CGT2016 pourrait former une autre voie d'exposition temporaire. Les voies d'exposition potentielles comprennent l'élimination de CGT2016 jetés dans des égouts municipaux, ce qui pourrait exposer les réseaux hydrographiques naturels à ceux-ci si le traitement réalisé par les systèmes d'eaux usées est minimal ou exposer les sites d'enfouissement et les zones de compostage au CGT2016, ce qui pourrait aussi entraîner une exposition des écosystèmes terrestres à celui-ci. La masse annuelle totale de CGT2016 importés au Canada et à l'intérieur du pays serait inférieure à 160 kg, les poissons étant vraisemblablement distribués partout au pays, mais de façon plus importante dans les régions urbaines. Selon les prévisions, ce ne serait pas la masse totale de CGT2016 qui serait introduite dans l'environnement en jetant des carcasses, bien que la proportion exacte de celle-ci pouvant y être introduite par cette voie ne peut pas être estimée en ce moment.

2.2.2 Probabilité de survie

La température de l'eau est un facteur abiotique clé ayant des répercussions tant sur la survie que sur la reproduction de la plupart des populations de poissons d'eau douce, et il s'agit d'un déterminant puissant du caractère propice d'un habitat (Amiro 2006; Elliott and Elliott 2010; Jobling 1981; Magnuson et al. 1979). En tant qu'espèce tropicale, le tétra noir ne devrait pas survivre dans une région tempérée dans laquelle les températures de l'eau sont inférieures aux températures optimales pour sa survie. Alors que la température optimale pour les tétras noirs

se situe peut-être entre 20 et 29 °C (voir la définition du problème), les données recueillies par le MPO sur les tétras blancs indiquent une température létale inférieure d'environ 9,8 °C, lorsque la température est abaissée lentement de 1 °C par jour à partir de la température optimale (Leggatt et al. 2018). Leggatt et al. (2018) ont aussi indiqué des modifications en ce qui concerne le degré d'activité et l'acte alimentaire des tétras blancs lorsque la température est réduite : il y a une diminution des deux à une température de 17 °C, ils ne mangent plus aux températures proches de 12 °C et ne sont plus actifs du tout juste au-dessus de 10 °C (voir la figure 2.2). GloFish a fourni des données sur des expériences similaires dans la documentation soumise avec l'avis, mais les renseignements sur l'expérience sont considérés comme confidentiels et ne sont pas inclus dans le présent rapport. En bref, le CGT2016 tolère légèrement moins le froid lorsque la température descend rapidement (c.-à-d. que la LD_{50} moyenne pour le CGT2016 est de 8,11 °C par rapport à 7,94 °C pour son équivalent sauvage). En fonction des études, il est raisonnable de conclure que le tétra blanc et le CGT2016 ne peuvent pas survivre à des températures inférieures à 7 °C et probablement pas pendant des périodes prolongées dans des eaux dont la température est inférieure à 9,5 °C.

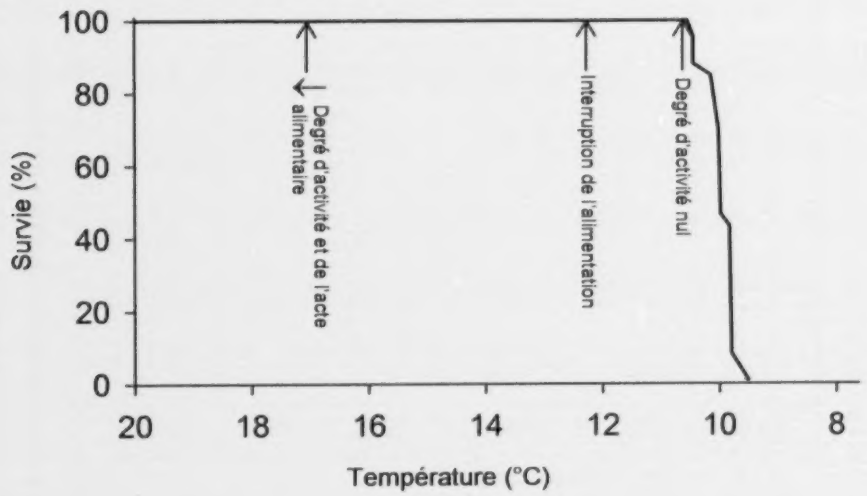

Figure 2.2 : *Survie et modifications du degré d'activité et de l'acte alimentaire du tétra blanc lorsque la température est abaissée de 1 °C par jour à partir de 20 °C. Figure tirée de la source Leggatt et al. (2018) et modifiée.*

Comme nous l'avons abordé dans la section de la définition du problème (voir la section « Caractérisation du milieu récepteur potentiel »), aucun lac canadien ne présente régulièrement des températures d'eau supérieures à 6 °C tout au long de l'année, et, pour la plupart d'entre eux, l'eau ne demeure pas à une température supérieure à 4 °C tout au long de l'année. Par conséquent, alors que les températures requises pour la survie du CGT2016 peuvent être atteintes dans plusieurs lacs canadiens au cours du printemps, de l'été et de l'automne, il est très improbable que le CGT2016 puisse survivre à l'hiver canadien. Dans le meilleur des cas, sa présence dans l'environnement serait saisonnière ou éphémère.

2.2.3 Probabilité de reproduction

Bien que les températures de l'eau au Canada limitent la présence de tout CGT2016 introduit dans l'environnement (voir la section 2.2.2), celui-ci peut néanmoins disposer du temps requis pour se reproduire s'il est introduit au début de la saison chaude. Par exemple, le lac Osoyoos de l'intérieur de la C.-B. est l'un des lacs du Canada les plus chauds pendant l'été (voir la figure 1.5), la température moyenne se situant entre 20 et 25 °C pendant deux mois de l'année (mi-juillet à la mi-septembre, BCLSS 2013). Quoique cela puisse être une plage de température idéale pour la survie du tétra blanc, des températures plus chaudes (27 à 29 °C) sont plus propices pour la reproduction. Comme indiqué dans la définition du problème (voir la section sur les espèces de comparaison), les tétras peuvent être des reproducteurs prolifiques dans des conditions idéales, mais dans la nature la production de larves est fortement liée à l'abondance de zooplancton, ce qui limite la croissance de la population. Dans des conditions contrôlées, les poissons de cette espèce dispersent leurs œufs et se reproduisent avec succès lorsqu'ils se trouvent dans des aquariums avec une grande densité de plantes à feuilles fines, comme de la mousse de Java, sur lesquelles les œufs adhésifs sont déposés. L'âge de maturité sexuelle des tétras blancs peut aller de quatre mois à plus d'un an, en fonction de la densité d'empoissonnement et de la température. Conséquemment, la reproduction serait limitée à une courte période au cours de l'été, peu importe l'âge des poissons au moment de leur introduction. Par exemple, des CGT2016 introduits dans le lac Osoyoos au début du mois de juillet disposeraient de deux mois pour trouver dans un nouvel environnement un habitat, les ressources requises pour la reproduction et d'autres congénères avec qui s'accoupler. Même si les œufs fécondés qui ne sont pas dévorés par des prédateurs pouvaient éclore après un délai relativement court (24 heures), toute progéniture n'arriverait pas à maturité avant l'arrivée de températures plus froides et ne survivrait pas à l'hiver, et ne serait donc plus présente jusqu'à la prochaine introduction. Même si des possibilités isolées de reproduction dans l'environnement canadien peuvent se produire, cette reproduction ne pourrait jamais provoquer la présence de plus d'une génération dans le milieu.

2.2.4 Probabilité de prolifération et dissémination

La capacité du CGT2016 à proliférer et à se propager dans l'environnement canadien est empêchée par le fait que le tétra blanc ne peut pas survivre dans les eaux canadiennes en hiver. En conséquence, sa présence dans l'environnement serait isolée, rare et éphémère selon les prévisions.

La présence d'un faible nombre de poches d'eau plus chaudes isolées pourrait représenter une exception possible (p. ex., sources thermales, effluents industriels d'eau chaude). Par exemple, des populations établies d'autres espèces de poissons tropicaux ont été signalées dans les sources thermales de Banff, en C.-B., où des détenteurs d'aquarium locaux ont volontairement introduit de nombreuses espèces tropicales d'eau douce d'aquarium en 1960 (Mayhood 1995). Le United States Geological Survey (USGS) a indiqué qu'il y a aux États-Unis de nombreuses populations établies de presque toutes les espèces introduites à Banff (base de données des espèces aquatiques non indigènes du USGS), mais deux d'entre elles seulement, soit la molliénésie à voilure et le cichlide à deux taches, se sont établies avec succès, les autres

n'ayant survécu que pendant quelques années (p. ex., le guppy, la queue d'épée, le cichlidé à bandes, le scalaire, Mayhood 1995). Le tétra noir a été introduit dans une source thermale du Colorado, aux États-Unis, et a survécu pendant quelques années, mais il n'y a pas eu de population établie (Nico and Fuller 2017). Afin que le CGT2016 forme une population établie dans des zones de sources thermales chaudes et isolées, la température doit demeurer stable et d'autres conditions écologiques doivent être appropriées pour une croissance, une survie, une reproduction et un développement et une croissance des embryons et des juvéniles à long terme. Bien que les exigences du *G. ternetzi* et du CGT2016 pour la reproduction et la survie n'aient pas été déterminées, les températures recommandées de façon générale pour la reproduction vont de 27 à 29 °C, ce qui indique que des exigences de température très précises doivent être respectées pour celle-ci et l'établissement des populations, ce qui n'est pas le cas de la plupart des poches de sources thermales canadiennes. Ce fait, ainsi que le succès médiocre d'espèces tropicales pour établir des populations dans des sources thermales, celles-ci ayant connu néanmoins plus de succès général que le *G. ternetzi* (voir ci-dessus), et au fait qu'aucune population de tétra noir ne se soit établie une fois le poisson introduit dans une source thermale du Colorado (Nico and Fuller 2017), il est anticipé que le potentiel du CGT2016 et de *G. ternetzi* en matière d'établissement de populations isolées dans des sources thermales d'eaux douces canadiennes soit négligeable.

Selon les prévisions, tout CGT2016 introduit au Canada occupera des zones près des lignes de côte et non des zones d'eaux profondes, en fonction des préférences d'habitat connues de ses semblables sauvages. Les plages de température de ces zones sont plus extrêmes que celles des eaux profondes ou des zones de milieu de lac qui sont souvent celles dont la température est mesurée (Trumpickas et al. 2015). En conséquence, il pourrait y avoir plus de zones où la température de l'eau est chaude propices à la reproduction pendant l'été que ce qu'indiquent les données, mais les températures d'hiver peuvent aussi être plus froides que ce que les dossiers montrent, ce qui peut réduire le potentiel de survie en hiver du CGT2016.

2.2.5 Conclusions

Au vu de l'analyse ci-dessus, la présence du CGT2016 dans l'environnement canadien devrait être rare, isolée, éphémère et ne représenter que peu d'individus. Par conséquent, la probabilité d'exposition de l'environnement canadien au CGT2016 est considérée comme faible (tableau 2.1). L'incertitude associée à cette estimation est faible étant donné la qualité des données sur le CGT2016 et les substituts valides (tolérance aux températures) et des données recueillies sur les paramètres du milieu récepteur au Canada (tableau 2.2). Cette conclusion concorde avec celles de Hill et al. (2014) qui anticipaient que le potentiel d'invasion des tétras GloFish[MD] des États-Unis serait faible, en raison du faible potentiel d'hybridation du poisson, de son historique indiquant un faible caractère envahissant, du nombre insuffisant de caractéristiques associées à la persistance et du haut potentiel de prédation en raison de sa petite taille et de sa couleur fluorescente.

Les variations de profils de température de l'eau causées par les changements climatiques ont le potentiel d'augmenter l'incertitude associée à la détermination de la capacité de l'organisme déclaré à survivre, à se reproduire, à proliférer et à se disséminer dans les écosystèmes d'eau

douce canadiens. Les augmentations de température prévues au cours de l'été peuvent entraîner une hausse du nombre de zones où la température est adéquate pour le frai ainsi que de la durée pendant laquelle les conditions sont adéquates. Toutefois, selon les prévisions, les augmentations de températures hivernales seront plus faibles que celles estivales et elles ne devraient pas dépasser le 5 °C ou plus requis pour que le *G. ternetzi* survive à l'hiver dans la plupart des réseaux hydrographiques, selon les estimations de leur tolérance aux températures inférieures en laboratoire. En conséquence, les changements climatiques ne devraient pas ajouter beaucoup d'incertitude ni modifier le niveau de probabilité d'exposition faible pour le CGT2016 à court terme.

La compagnie a indiqué que l'organisme déclaré sera utilisé comme poisson d'ornement pour des aquariums de résidence fixes seulement. Toutefois, une fois le produit acheté par des clients, la possibilité que le poisson soit utilisé autrement ne peut pas être écartée. Bien que certaines des utilisations imprévues puissent entraîner une augmentation du nombre de CGT2016 introduits (p. ex., appâts, étangs extérieurs), elles ne devraient pas modifier sa capacité à survivre en hiver au Canada ou le faible niveau d'exposition de l'environnement à l'organisme.

De façon générale, selon les estimations, la probabilité que l'environnement canadien soit exposé au CGT2016 est faible, le niveau d'incertitude étant aussi faible. Cette conclusion et l'incertitude y étant associée sont présentées en détail à la section 2.4 « Évaluation du risque ».

2.3 ÉVALUATION DES DANGERS

L'évaluation des dangers examine les répercussions potentielles pouvant être entraînées par l'exposition de l'environnement au CGT2016. Le processus d'identification de dangers considère le potentiel de toxicité pour l'environnement, d'allergénicité, de capacité à agir comme vecteur de pathogènes et la capacité à modifier des composantes d'écosystème. Le tableau 2.3 catégorise la gravité des répercussions biologiques en fonction de la gravité et de la réversibilité des effets causés à la structure et à la fonction de l'écosystème. La gravité (négligeable, faible, modérée, élevée) des répercussions sur les paramètres d'évaluation est évaluée dans l'évaluation du risque, ainsi que les incertitudes, en tenant compte du caractère approprié des expériences de contrôle et des données, des conditions d'élevage, des effets des interactions, de la plasticité phénotypique et du bagage génétique afin de minimiser l'incertitude en ce qui concerne l'évaluation des conséquences écologiques potentielles du CGT2016. Toute modification de paramètre de mesure est évaluée par rapport aux variations normales, en se fondant sur les études publiées et l'opinion des experts (tableau 2.3).

Tableau 2.3 : *Classement du danger pour l'environnement découlant de son exposition à l'organisme*

Classement du danger	**Évaluation**
Négligeable	Aucun effet[1]

Classement du danger	Évaluation
Faible	Aucun effet nocif[2]
Modéré	Effets nocifs réversibles
Élevé	Effets nocifs irréversibles

[1]Aucune réponse biologique (au-delà de la variabilité naturelle) n'est attendue. [2]Effet nocif : Effet négatif immédiat ou à long terme sur la structure ou la fonction de l'écosystème, y compris la diversité biologique (au-delà de la variabilité naturelle).

En raison de l'insuffisance en matière de données empiriques sur le comportement et la valeur adaptative du CGT2016 dans l'environnement naturel, il faut porter particulièrement attention aux facteurs d'incertitude dans le cadre de l'évaluation des dangers. L'incertitude entourant l'évaluation des dangers peut être importante en raison des lacunes dans les connaissances et des données empiriques insuffisantes sur le comportement et les effets du CGT2016 lorsqu'il est dans l'environnement naturel.

Le centre d'expertise pour la recherche en réglementation de la biotechnologie aquatique du MPO a réalisé beaucoup de recherche en laboratoire sur la valeur adaptative et le comportement des poissons génétiquement conçus pour aider à estimer la valeur adaptative de ceux-ci dans l'environnement naturel en utilisant et en comparant les résultats d'expériences réalisées dans des aquariums, des cours d'eau à moitié naturels et des mésocosmes, alors plusieurs des sources d'incertitude sont bien comprises (Devlin et al. 2015). Bien que la recherche ne puisse être réalisée sur l'organisme en tant que tel, elle a permis de cerner plusieurs principes généraux qui peuvent s'appliquer à l'organisme et qui représentent des sources d'incertitude potentielles indiquant jusqu'à quel point il est possible de fier aux données de laboratoire du comportement de ces poissons lorsqu'ils sont dans un environnement naturel. Les résultats de cette recherche sont décrits ci-dessous :

- L'environnement d'élevage des poissons peut influencer grandement l'expression phénotypique du transgène (p. ex., Sundström et al. 2007). L'influence de l'environnement d'élevage limite la capacité à extrapoler les données de laboratoire utilisées comme indications fiables du comportement des poissons génétiquement conçus (p. ex., concurrence, survie) dans un environnement naturel à moins qu'il soit possible de démontrer que les poissons sauvages témoins élevés en laboratoire se comportent de la même façon que les poissons sauvages dans la nature et qu'il n'y a aucune interaction de type effets génotype-environnement entre les poissons sauvages et ceux génétiquement conçus ou que celles-ci sont bien définies. En l'absence de telles données sur des témoins, il existe une incertitude quant au degré de fiabilité des données de laboratoire utilisées comme indications fiables du comportement des poissons dans la nature.

- Les effets phénotypiques du transgène peuvent varier de façon importante en fonction du bagage génétique du parent (p. ex., espèce sauvage par rapport à une espèce

domestiquée). Par exemple, la performance des poissons sauvages dotés d'une construction de gène hormonale de croissance insérée peut être énormément différente de la performance d'un poisson domestiqué de la même espèce dans lequel une telle construction a aussi été insérée (p. ex., Devlin et al. 2001). Les organismes de réglementation doivent donc étudier de près le bagage génétique des témoins des expériences pour évaluer la validité scientifique des données d'expériences afin de déterminer si dans la nature un phénotype s'exprimerait de la même façon pour de multiples génotypes. Les données expérimentales sur l'expression du transgène chez une espèce ou une souche doivent être interprétées avec précaution parce qu'elles peuvent ne pas être représentatives de l'expression du même transgène chez une autre espèce ou souche.

- Un seul transgène peut entraîner plusieurs expressions phénotypiques appelées des effets pléiotropiques. Par exemple, des données empiriques démontrent que l'augmentation de croissance attribuable à la transgénèse chez certaines espèces de poissons peut aussi avoir des conséquences sur la résistance aux maladies (Jhingan et al. 2003). Donc, si le responsable de l'étude ne dirige pas son attention spécifiquement vers un effet non ciblé, celui-ci peut demeurer non détecté. Il faut aussi remarquer que les différents types de gènes modifiés peuvent avoir des effets pléiotropiques très différents. Par exemple, la modification d'une caractéristique de valeur adaptative principale, comme la taille ou le taux de croissance, devrait avoir des conséquences importantes pléiotropiques ou sur la valeur adaptative pour toutes les caractéristiques liées à la croissance tandis que les répercussions de nature pléiotropique pour des caractéristiques secondaires comme la couleur des yeux ou la pigmentation de la chair peuvent être limitées.

Les critères pour l'évaluation de l'incertitude tiennent compte des effets potentiels sur l'environnement, ce qui peut dépendre grandement des renseignements et des données de documents publiés et scientifiques examinés par les pairs. Les niveaux d'incertitude associés aux dangers potentiels de l'organisme pour l'environnement sont décrits au tableau 2.4.

La qualité des données réfère aux données ou aux renseignements accessibles pour chaque paramètre examiné, à l'intégration de ces renseignements et à l'ampleur des conditions expérimentales étudiées, à la taille de l'échantillon, au caractère approprié des témoins, à l'analyse statistique, à la conception des expériences et à l'interprétation des résultats. La variabilité réfère à la gamme de différences phénotypiques parmi les individus ou les souches du même environnement ainsi qu'à l'éventail de conditions physiques, chimiques et biologiques auxquelles un poisson génétiquement conçu peut être exposé dans le milieu récepteur.

L'utilisation proposée du CGT2016 (importation et transport dans des conteneurs fixes, entreposage dans des aquariums fixes de grossistes et de détaillants, élevage dans des aquariums fixes de résidences) minimise les séquences des effets de ce poisson sur l'environnement canadien, sauf pour l'exception possible qu'est l'introduction d'eaux usées provenant de systèmes d'eaux usées municipales et l'élimination de carcasses jetées dans des égouts municipaux dont le traitement est minimal ou dans des sites d'enfouissement ou de

compostage. La majorité des dangers posés par le CGT2016 (p. ex., interactions avec d'autres organismes, vecteur de maladie, conséquences sur le cycle biogéochimique, l'habitat et la biodiversité) serait causée par une introduction directe du CGT2016 dans des écosystèmes aquatiques naturels ou une introduction indirecte, soit des introductions d'eaux usées ou de carcasses (p. ex., toxicité pour l'environnement, transmission horizontale de gènes).

***Tableau 2.4** : Classement du niveau d'incertitude associé au danger pour l'environnement*

Classement du niveau d'incertitude	**Renseignements disponibles**
Négligeable	Données de grande qualité sur le CGT2016 Preuve de l'absence d'effets génotype-environnement ou parfaite compréhension de ces derniers dans les différentes conditions environnementales pertinentes. Signes d'une faible variabilité.
Faible	Données de grande qualité sur des organismes proches du CGT2016 ou des substituts valides. Compréhension des effets génotype-environnement dans les différentes conditions environnementales pertinentes. Une certaine variabilité.
Modéré	Données limitées sur le CGT2016, des organismes proches ou des substituts valides. Compréhension limitée des effets génotype-environnement dans les différentes conditions environnementales pertinentes. Lacunes dans les connaissances. Dépendance à l'égard de l'opinion des experts.
Élevé	Importantes lacunes dans les connaissances. Dépendance importante à l'égard de l'opinion des experts.

2.3.1 Dangers potentiels liés à la toxicité pour l'environnement

Les voies potentielles de toxicité pour l'environnement comprennent une exposition des écosystèmes aquatiques à l'animal entier et à ses déjections, ainsi que l'ingestion de CGT2016 par des prédateurs. Selon les prévisions, l'exposition de l'environnement à la protéine fluorescente ou l'exposition des organismes indigènes à celle-ci sera inférieure, bien que non nécessairement comparable, à l'exposition du CGT2016 à celle-ci. La lignée du CGT2016 tolère moins le froid et son succès en matière de reproduction est inférieur à celui de ses semblables sauvages, mais cela n'a aucune conséquence sur la survie des juvéniles (voir la section 1.5.2.3). En outre, GloFish LLC a soumis des déclarations de deux vétérinaires ayant étudié le CGT2016 et ses semblables non transgéniques indiquant que le CGT2016 ne subit pas de troubles de santé importants et qu'il doit être élevé de la même façon que les deuxièmes (voir la section 1.5.2.3). La protéine fluorescente transgénique n'a aucun effet important connu sur la viabilité du CGT2016, ce qui indique qu'il ne devrait pas y avoir d'effets toxiques sur la

viabilité et la reproduction des espèces indigènes si l'environnement est exposé à la protéine fluorescente ou au CGT2016.

La protéine transgénique est dérivée d'une protéine fluorescente naturelle d'un cnidaire d'un environnement marin, cette protéine étant aussi utilisée pour le commerce d'espèces d'ornement du monde entier, y compris du Canada. Les protéines fluorescentes sont courantes chez de nombreux organismes marins, particulièrement ceux du *Cnidaria phylum*, mais aussi chez d'autres groupes, y compris les poissons (Sparks et al. 2014). En outre, de nombreuses protéines fluorescentes sont couramment utilisées comme marqueurs neutres à des fins scientifiques et la majorité des études n'indiquent pas que les transgènes fluorescents sont toxiques (p. ex., Stewart 2006). Parmi les signalements d'effets négatifs, ceux-ci sont généralement propres aux organismes transgéniques ayant un niveau d'expression de transgènes fluorescents élevé, les lignées dont le niveau d'expression est moindre n'ayant pas subi d'effets nocifs (p. ex., Devgan et al. 2004; Guo et al. 2007; Huang et al. 2000a).

L'avis pour le CGT2016 comprend un rapport analysant la séquence d'aminoacides de la protéine fluorescente pour l'allergénicité obtenu à l'aide d'Allermatch. Aucun résultat n'a été obtenu avec un mot d'une longueur de 7 ou 8 caractères, puis sept résultats montrant des séquences d'aminoacides provoquant des allergies connues ont été obtenus avec un mot d'une longueur de 6 caractères. Toutefois, les recherches avec des mots dont la longueur est inférieure à 8 caractères donnent souvent des séquences aléatoires sans valeur prédictive (voir Herman et al. 2009) et les résultats obtenus avec un mot d'une longueur de 6 caractères ne doivent donc probablement pas indiquer que la protéine fluorescente présente un caractère allergène. Bien que le potentiel de toxicité de la protéine fluorescente exprimée par la construction n'ait pas été spécifiquement examiné dans le cadre d'études scientifiques, il a été signalé qu'une autre protéine vert fluorescent (GFP) n'avait aucun effet toxique ou allergène en cas d'ingestion par des rats, et qu'elle était rapidement dégradée par une digestion gastrique simulée (Richards et al. 2003). Ces constatations semblent indiquer une absence de toxicité ou de persistance après la consommation des protéines fluorescentes. Cet élément, ainsi que l'absence d'effets toxiques de l'expression ubiquiste de la protéine fluorescente de l'organisme CGT2016, malgré 5 années de production à des fins commerciales aux États-Unis, soutient le fait qu'il existe un **danger négligeable de toxicité pour l'environnement provenant du CGT2016**. **Le niveau d'incertitude associé à ce danger est modéré**, en raison du manque de données directes concernant l'organisme déclaré ou des substituts et de la disponibilité de nombreuses preuves indirectes liées à d'autres modèles de protéines fluorescentes.

2.3.2 Dangers potentiels liés à la transmission horizontale de gènes

La transmission horizontale de gènes consiste en l'échange non sexuel de matériel génétique entre des organismes de la même espèce ou non (DFO 2006). La transmission horizontale de gènes est un phénomène rare, qui est souvent mesuré selon un cadre temporel lié à l'évolution, mais qui est beaucoup plus fréquent chez les procaryotes que les eucaryotes (EFSA 2013). Les analyses génétiques indiquent que la THG s'est peut-être produite de façon répétée pour l'évolution des vertébrés, ce qui comprend les poissons (p. ex., Kuraku et al. 2012; Thomas et al. 2010; Uh et al. 2006), bien que la transmission de gènes chez les eucaryotes semble être

principalement limitée aux organismes filamenteux (p. ex., oomycètes et champignons, Peccoud et al. 2017). En outre, les transferts de gènes chez les eucaryotes concernent principalement des éléments transposables (c.-à-d. de l'ADN pouvant se déplacer d'un locus du génome à un autre, voir Peccoud et al. 2017).

Pour que la THG d'un transgène précis se produise à une échelle biologique pertinente et entraîne des effets dangereux, les étapes suivantes doivent avoir lieu : exposition d'un nouvel organisme et absorption du transgène libre par ce dernier; stabilité et expression du gène chez le nouvel organisme; sélection neutre ou positive du nouvel organisme exprimant le gène transféré (DFO 2006); effets nocifs sur l'environnement en raison de l'expression du gène transféré vers le nouvel organisme.

Exposition : Afin qu'il y ait une THG pour ce transgène, celui-ci doit exister sous la forme d'ADN non lié pouvant être intégré par un nouvel organisme. Le mucus, les cellules de la peau, les gamètes, les déjections, etc. des organismes peuvent introduire de l'ADN dans l'environnement (Rees et al. 2014). De l'ADN de CGT2016 pourrait être introduit dans l'environnement en jetant des eaux usées d'aquarium dans des systèmes d'eaux usées municipaux qui alimentent directement des réseaux hydrographiques naturels ou effectuent un traitement minimal. Si des CGT2016 étaient introduits délibérément ou par inadvertance dans des réseaux hydrographiques naturels, cela pourrait constituer une source continue d'ADN de transgène tant que le poisson demeure dans ces réseaux. Les carcasses de poissons jetées dans des sites d'enfouissement ou des zones de compostage pourraient aussi être des sources d'ADN de transgène. De l'ADN non lié se trouvant dans des réseaux hydrographiques se désagrège rapidement, à l'intérieur de quelques jours ou semaines, bien qu'il puisse persister plus longtemps dans des sédiments (Turner et al. 2015). La petite taille du CGT2016 indique que l'importance de la source d'ADN sera relativement petite. Selon les estimations, une masse inférieure à 160 kg de CGT2016 sera importée chaque année (voir la section sur l'exposition), ce qui indique que l'exposition d'organismes susceptibles à de l'ADN de CGT2016 serait faible, quoique non totalement négligeable.

Absorption : Un nouvel organisme doit absorber le segment d'ADN lorsqu'il est intact. Les procaryotes sont les organismes qui ont le plus de chances d'absorber de l'ADN d'un autre organisme (MPO, 2006) et les organismes plus complexes doivent les intégrer aux cellules germinales ou reproductives pour les transmettre à plus d'une génération. La séquence du transgène inséré dans le CGT2016 ne contient aucun élément transposable (selon Sultana et al. 2017) ou mobile. En conséquence, le transgène isolé ne devrait pas être plus absorbé que pour un tétra sauvage. On ne sait pas si le transgène est inséré à l'intérieur ou à côté d'un élément transposable naturel du *G. ternetzi*. Bien que la présence d'éléments transposables dans l'ADN du *G. ternetzi* n'ait pas été spécifiquement examinée, les characiformes en sont dotés (p. ex., Daniel et al. 2015; Schemberger et al. 2016; Yano et al. 2016) et il n'est donc pas possible d'écarter la possibilité que le transgène soit près d'éléments transposables du génome de celui-ci.

Stabilité, expression et sélection : Le DFO (2006) a déterminé que la stabilité de l'ADN qui se trouve dans un nouvel organisme est l'obstacle le plus important à la THG effectuée par

sélection naturelle. Les procaryotes sont les organismes dont le potentiel est le plus élevé pour une THG et le fait que la construction du gène inséré provient de poissons et de cnidaires entraîne une insuffisance homologique attendue entre le transgène et la bactérie recevant l'ADN, cette homologie améliorant la stabilité de la construction. Pour que le transgène s'exprime chez un nouvel organisme, il doit y avoir un co-transfert d'un ou des deux d'éléments régulateurs. Bien que le potentiel des promoteurs provenant de poissons utilisés pour l'expression de gènes chez les procaryotes n'ait pas été étudié directement, le degré d'activité des promoteurs de vertébrés est généralement faible chez les procaryotes (voir DFO 2006), alors le degré d'activité de promoteurs provenant de poissons ne devrait pas être élevé pour un procaryote. Toutefois, la possibilité que le procaryote recombine le nouvel ADN ne peut être écartée (Brigulla and Wackernagel 2010) et les régions codantes du transgène pourraient être insérées à côté de promoteurs bactériens. Par conséquent, le potentiel de la construction d'être exprimée dans un nouvel hôte procaryote ne peut pas être exclu. Si toutes les étapes décrites ci-dessus étaient réalisées, une sélection neutre ou positive pour l'organisme doté du nouveau phénotype devrait alors se produire pour que le transgène mobile persiste chez la population et le potentiel qu'une telle chose se fasse n'a pas été étudié. Les gènes codants des protéines fluorescentes ont été introduits dans un large éventail d'organismes et, pour la plupart, aucun effet nocif n'a été signalé, ce qui indique que l'introduction du transgène par THG chez de nouveaux organismes ne devrait pas entraîner d'effets nocifs. Bien que l'introduction du transgène chez d'autres organismes de l'environnement canadien par une THG ne puisse être exclue, l'absence d'effets nocifs anticipés causés par celle-ci fait que le **niveau de danger associé à la THG est faible**. Puisque le site d'insertion du transgène est inconnu et qu'il faut se fier à des données sur des organismes de comparaison pour évaluer les répercussions s'il y avait une THG, **le degré d'incertitude associé à ce danger est faible**.

2.3.3 Dangers potentiels liés aux interactions avec d'autres organismes

Les interactions trophiques du *G. ternetzi* sauvage, lorsqu'il est dans son aire de répartition indigène, ne sont pas bien connues (voir la section 1.6.4.8) et il n'existe aucun document sur de telles interactions pour des CGT2016 ou des *G. ternetzi* d'ornement sauvages qui se sont échappés et se trouvent dans d'autres régions. Si le CGT2016 était introduit dans l'environnement, il pourrait interagir avec d'autres organismes des écosystèmes aquatiques d'eau douce canadiens, y compris des proies, des concurrents et des prédateurs potentiels.

Dans un aquarium, les tétras noirs mangent avec appétit des aliments vivants (p. ex., petits vers de terre, crustacés, larves d'insectes, etc.) ainsi que des flocons commerciaux pour poissons d'ornement et de très petits poissons (p. ex., larves, Fish Care Manuals 2012). Ils peuvent donc avoir des répercussions sur les populations locales de petites proies de l'endroit où ils sont introduits. Le degré des répercussions sur ces populations n'a pas été étudié. Toutefois, les tétras noirs ne sont pas connus comme voraces et ne mangent pas de façon excessive (Frank 1980). Leur présence ne devrait donc pas avoir plus de conséquences sur les populations de proies que celle d'autres petits poissons indigènes. En cas d'introduction, ils pourraient aussi avoir des conséquences sur d'autres petites espèces de prédateurs en agissant comme concurrents. Quoique la capacité de concurrence du CGT2016 ou des tétras noirs n'ait pas été étudiée, les gens du commerce d'espèces d'ornement destinées aux aquariums les décrivent

généralement comme des poissons d'aquarium qui forment des communautés et ne sont généralement pas agressifs envers les autres espèces de taille similaire ou supérieure. Il ne devrait donc pas y avoir de conséquences importantes sur les populations de poissons indigènes causées par une capacité de concurrence exceptionnelle. La température optimale suggérée pour la santé et les activités des tétras noirs d'aquariums de particuliers va de 20 à 29 °C (voir la section 1.6.4.2). Quoique la température de l'eau pendant l'été puisse se trouver à l'intérieur de cette plage pour de nombreux réseaux hydrographiques canadiens (Leggatt and Devlin 2006, voir la figure 1.13), la température devrait être beaucoup plus basse à d'autres moments de l'année. Le degré d'activité et celui de l'acte alimentaire des tétras blancs du commerce d'espèces d'ornement destinées aux aquariums diminuent à environ 17 °C, les tétras cessent de se nourrir juste au-dessus de 12 °C et ne sont plus actifs du tout juste au-dessus de 10 °C (Leggatt et al. 2018, voir la figure 2.2). Puisque le degré d'activité et celui de l'acte alimentaire diminuent à mesure que la température baisse, les conséquences sur les proies et les concurrents devraient aussi être réduites lorsque la température baisse. Le CGT2016 tolérant moins bien le froid que le tétra blanc (voir la section 1.5.2.3), le degré d'activité et celui de l'acte alimentaire peuvent diminuer à des températures plus élevées, bien que cela n'ait pas été étudié de façon spécifique. Étant donné les faibles températures des réseaux hydrographiques d'eau douce pendant la plus grande partie de l'année, le potentiel que des CGT2016 introduits dans la nature aient des conséquences sur les espèces aquatiques indigènes en capturant des proies et en entrant en concurrence devrait être négligeable pendant presque toute l'année et ne devrait pas dépasser celui d'autres petits poissons pendant l'été.

La capacité du CGT2016 à manger des proies ou à entrer en compétition pour de la nourriture par rapport aux tétras noirs et blancs sauvages est inconnue. Pour un autre poisson fluorescent, Jha 2010 a découvert que d'élever des poissons zèbres ou des *Esomus Danricus* sauvages avec des poissons zèbres transgéniques dotés de la RFP obtenus auprès de marchands de l'Inde vendant des espèces d'ornement domestiques réduisait grandement l'agressivité de ces espèces sauvages et que ces dernières évitaient d'interagir avec les poissons zèbres transgéniques (Jha 2010). Les poissons zèbres transgéniques étaient aussi beaucoup plus agressifs envers les espèces sauvages que l'inverse (Jha 2010). On ne sait pas si les différences de comportement agressif entre les poissons zèbres transgéniques et les poissons sauvages étaient causées par le phénotype (fluorescence), les différences de bagage génétique (animaux domestiques par rapport aux animaux sauvages) ou l'historique de croissance (aquarium par rapport à la nature). Les poissons étaient dans des aquariums contenant juste de l'eau et personne n'a étudié si les mêmes différences de comportement seraient reproduites dans un environnement complexe comme la nature. En outre, personne n'a vérifié directement si des tendances de comportement similaires se reproduiraient pour les tétras transgéniques. Au cours des 5 années de commercialisation du CGT2016 sur le marché des poissons d'ornement, on n'a signalé aucun cas anecdotique ou autre d'un CGT2016 ayant des niveaux d'activité ou des comportements différents de ceux du *G. ternetzi* non transgénique et le vétérinaire travaillant pour le compte de GloFish LLC a soumis une lettre indiquant que le CGT2016 doit être élevé de la même façon que le poisson non transgénique (voir la

section 1.5.2.3), ce qui indique que les conséquences potentielles du CGT2016 sur les proies et les concurrents sont similaires à celles du *G. ternetzi* non transgénique.

Les CGT2016 introduits pourraient également avoir des répercussions sur les populations indigènes de prédateurs en formant une nouvelle source d'approvisionnement en nourriture. Ils pourraient avoir un effet positif sur les populations de prédateurs s'ils étaient une nouvelle source de nourriture ou un effet négatif si manger des CGT2016 causait des effets nocifs à celles-ci. La deuxième hypothèse ne devrait pas se confirmer, puisque le CGT2016 ne devrait pas être toxique pour l'environnement et que la protéine fluorescente ne devrait l'être pour les organismes mangeant des CGT2016 (voir la section 2.3.1 ci-dessus). Bien que la pression exercée par les prédateurs sur le CGT2016 par rapport à celle exercée sur les *G. ternetzi* non transgéniques n'ait pas été étudiée, les effets de la transgénèse de la protéine fluorescente présente des résultats contradictoires pour le poisson zèbre. Hill et al. (2011) ont découvert que la pression exercée par les prédateurs sur les poissons zèbres dotés de la RFP est deux fois plus élevée que pour ceux sauvages lorsqu'ils grandissent dans des habitats complexes où se trouvent deux prédateurs de l'Amérique du Nord de taille différente (achigan à grande bouche et gambusie). Les auteurs ont posé comme hypothèse que cela s'expliquait par les couleurs plus vives du poisson zèbre doté de la RFP par rapport à ses semblables sauvages. Il faut noter que les poissons zèbres dotés de la RFP étudiés proviennent de la variante dorée du poisson zèbre n'ayant pas de bandes remarquables et l'absence d'homochromie chez le poisson transgénique peut avoir aussi contribué au fait que les prédateurs ont mangé plus de poissons zèbres dotés de la RFP indépendamment de la couleur fluorescente. Une étude plus ancienne (Cortemeglia and Beitinger 2006b) réalisée avec la variété à bandes d'origine commercialisée du poisson zèbre doté de la RFP (Gong et al. 2003) indiquait que la pression exercée par l'achigan à grande bouche sur les poissons transgéniques dotés de la RFP et sur ceux sauvages était semblable (rapport de 1,4 : 1 respectivement). Les différences entre les résultats de ces études pourraient s'expliquer par des différences de phénotype de poisson zèbre doté de la RFP (bandes et sans bandes), un nombre insuffisant de zones de refuge pour les essais de Cortemeglia et Beitinger et une efficacité statistique faible pour déterminer les différences potentielles dans le cadre de ces derniers essais (Hill et al. 2011). Une troisième étude a révélé une troisième tendance, la vulnérabilité aux prédateurs des poissons zèbres dotés de la RFP du commerce d'espèces d'ornement étant inférieure à celle des *Esomus danricus* et des poissons zèbres sauvages capturés en Inde (Jha 2010). Dans le cadre de cette étude, les poissons-serpents capturés semblent éviter les poissons transgéniques dotés de la RFP et les poissons zèbres et les *Esomus danricus* sauvages étaient plus souvent mangés par des prédateurs en présence de poissons transgéniques que lorsqu'ils étaient ensemble. Comme pour le comportement agressif, on ne sait pas si les différences concernant la vulnérabilité aux prédateurs entre les poissons zèbres transgéniques dotés de la RFP et les poissons sauvages étaient causées par le phénotype (fluorescence), les différences de bagage génétique ou l'historique de croissance. Les poissons étaient dans des aquariums contenant juste de l'eau et personne n'a étudié si les mêmes différences concernant la vulnérabilité aux prédateurs seraient reproduites dans un environnement complexe comme la nature. Pour les poissons zèbres dotés de la RFP, les effets de la transgénèse de la protéine fluorescente ne sont pas

uniformes selon les différentes études et ils peuvent être influencés par la lignée transgénique, la complexité de l'habitat, le bagage génétique et l'historique de croissance.

On ne sait pas si les résultats d'une des études susmentionnées peuvent s'appliquer à la vulnérabilité aux prédateurs du CGT2016 et, en conséquence, il est impossible d'estimer celle-ci par rapport à celle de ces semblables sauvages en fonction d'un degré de certitude raisonnable. Des études soulignent que les tétras sauvages réduisent leur degré d'activité à une température de moins de 17 °C et qu'ils cessent toute activité autour de 10,5 °C (Leggatt et al. 2018, voir la figure 2.2). Cette diminution d'activité entraînée par la réduction de température peut augmenter la vulnérabilité aux prédateurs des tétras en dehors de la période estivale puisqu'ils peuvent réagir plus lentement à la présence de prédateurs que d'autres espèces indigènes de taille similaire s'étant adaptées à un climat tempéré. En raison de la couleur verte brillante et de l'absence d'homochromie (bandes de couleur) du CGT2016, celui-ci devrait être plus vulnérable aux prédateurs que les espèces indigènes, ce qui pourrait avantager temporairement les prédateurs indigènes s'il était introduit dans les écosystèmes naturels.

En raison du comportement peu agressif des tétras noirs, du faible degré d'activité dans les eaux froides et de l'absence de modifications relativement au comportement trophique, le CGT2016 ne devrait pas influencer les interactions trophiques des organismes indigènes au-delà des variations naturelles attendues, le **niveau de danger étant négligeable** relativement à ses semblables non transgéniques. Ce classement présente un **niveau d'incertitude modéré**, en raison du nombre insuffisant d'études examinant directement les dangers posés par le CGT2016, des lacunes dans la compréhension des effets génotype-environnement sur l'agressivité et la vulnérabilité aux prédateurs du poisson zèbre transgénique fluorescent doté de la RFP et des lacunes dans la compréhension de l'applicabilité du modèle du poisson zèbre doté de la RFP au CGT2016.

2.3.4 Dangers potentiels liés à l'hybridation avec des espèces indigènes

Le tétra noir appartient à la famille des characidés, dont l'aire de répartition va de l'Amérique du Sud et de l'Amérique centrale au Sud-Ouest des États-Unis, en Amérique du Nord (Oliveira et al. 2011, voir la section 1.6.2). Trois autres espèces seulement font partie du genre *Gymnocorymbus* (Benine et al. 2015), ce qui indique qu'il n'a que peu de parents proches même dans son aire de répartition indigène. Les tétras noirs se reproduisent par libération de gamètes et, en conséquence, ils pourraient former des hybrides avec les espèces qui frayent à la même place au même moment. Toutefois, en raison de l'absence de poissons indigènes de la même famille au Canada, les hybrides produits de cette façon ne devraient pas être viables. Ainsi, le potentiel du **CGT2016 de poser des dangers en raison d'une hybridation viable entre des CGT2016 et des poissons indigènes du Canada est négligeable**. Le **niveau d'incertitude est négligeable** en raison des données de grande qualité sur l'aire de répartition des characidés et du *Gymnocorymbus*.

2.3.5 Dangers potentiels en tant que vecteur de maladies

Les poissons d'ornement d'aquarium commerciaux sont couramment des vecteurs d'agents pathogènes, y compris des virus, des bactéries, des champignons et des parasites

(p. ex., Evans and Lester 2001; Hongslo and Jansson 2009; Řehulka et al. 2006; Rose et al. 2013; Whittington and Chong 2007). Bien que les espèces de poissons d'aquarium individuelles examinées ne soient pas toujours inscrites et que le tétra noir ne fasse pas souvent partie des espèces examinées inscrites, le tétra noir d'aquarium a été spécifiquement inscrit dans le cadre de quelques études et des symptômes de tuberculose ont été décelés, mais aucun parasite n'a été vu (Řehulka et al. 2006) (Kim et al. 2002, remarque : des trématodes et des cystes ont été observés sur les branchies de tétras blancs d'aquarium par le MPO [données non publiées de R. Leggatt] et GloFish LLC a soumis une évaluation vétérinaire qui indiquait la présence de nématodes chez tous les poissons CGT2016 soumis, voir la section 1.5.2.3). Bien que les agents pathogènes soient courants parmi les poissons tropicaux d'eau douce vivant dans un aquarium, très peu d'espèces (p. ex., carassin doré, poisson zèbre, gobies d'aquarium, guppy, gourami bleu) sont inscrites par l'Agence canadienne d'inspection des aliments à la liste des espèces vulnérables aux maladies préoccupantes pour la santé des animaux aquatiques et l'économie canadienne (voir la page : Espèces d'animaux aquatiques vulnérables). Ni le tétra noir, ni aucun autre tétra, ne font partie de cette liste, ce qui indique qu'ils n'ont pas été des vecteurs d'agents pathogènes préoccupants au Canada. Tous les agents pathogènes dont le CGT2016 pourrait être l'hôte seraient d'origine tropicale ou persisteraient dans les eaux chaudes qui règnent habituellement dans les aquariums domestiques (p. ex., 25 à 28 °C). Ces agents pathogènes auraient donc des capacités limitées à persister, tant à l'intérieur qu'à l'extérieur du CGT2016, une fois introduits dans les milieux d'eau douce plus froids du Canada.

Aucun examen n'a été mené quant à la modification des capacités du CGT2016 et de tout autre organisme fluorescent transgénique à agir comme vecteur d'agents pathogènes. Une vulnérabilité accrue aux maladies peut augmenter la capacité du poisson en tant que vecteur si sa capacité à agir comme réservoir et à libérer des agents pathogènes augmente ou la diminuer s'il succombe à une maladie rapidement. Certaines études sur des cultures de cellules fluorescentes utilisées en recherche ont signalé des modifications potentielles de vulnérabilité aux maladies. Par exemple, l'expression de la GFP réduisait l'activation des cellules T (Koelsch et al. 2013), entraînait la sécrétion de cytokine IL-6 (Mak et al. 2007), bloquait les voies de signalisation immunitaires (Baens et al. 2006) et modifiait l'expression des gènes de la fonction immunitaire (Coumans et al. 2014) et de réponse au stress (Badrian and Bogoyevitch 2007). Il n'a pas encore été vérifié si ces modifications peuvent être observées à l'échelle d'animaux transgéniques fluorescents complets. Le CGT2016 est élevé à une échelle commerciale depuis 5 ans aux États-Unis, tout comme de nombreuses autres lignées et espèces d'ornement transgéniques fluorescentes destinées aux aquariums depuis 2003. GloFish LLC a fourni des déclarations d'un vétérinaire de la compagnie et d'un vétérinaire de la University of Florida qui fait du dépistage de maladies pour la compagnie soulignant qu'aucune preuve n'avait été trouvée venant étayer une vulnérabilité accrue aux agents pathogènes transmis par l'eau, ou une transmission accrue de ces derniers. Lesdites déclarations indiquent en outre qu'aucun autre problème de santé supplémentaire pour le CGT2016 ou toute autre espèce fluorescente n'a été relevé par rapport à leurs homologues non transgéniques dans des conditions d'élevage standard (voir la section 1.5.2.3). D'autres espèces tropicales fluorescentes (p. ex., le poisson zèbre) ont été étudiées de façon approfondie en laboratoire à des fins de recherche et il n'existe aucun rapport connu indiquant qu'il y a des effets sur la vulnérabilité aux maladies, et Howard et

al. (2015) ont fait le suivi de plus de 15 générations de 18 populations de poissons zèbres sauvages et d'autres dotés de la RFP, dans des conditions de laboratoire, sans remarquer de différences entre la survie des poissons sauvages et celle des poissons transgéniques. Ces données indiquent que le **potentiel que la capacité du CGT2016 à agir comme vecteur soit modifiée par rapport à celle des tétras sauvages est négligeable**. Étant donné que ce sujet n'a pas été directement examiné et qu'il faut dépendre de preuves indirectes et de l'opinion des experts, le **niveau d'incertitude est modéré pour ce danger**.

2.3.6 Dangers potentiels pour le cycle biogéochimique

Dans l'habitat où il est introduit, le CGT2016 devrait contribuer aux cycles des éléments nutritifs en ingérant des proies et d'autre nourriture ainsi qu'en éliminant des déchets métaboliques (ammoniac et déjections). Lorsqu'il est dans un environnement d'aquarium constant, le tétra noir sauvage est décrit comme un animal qui ne mange pas et ne pollue pas son environnement de façon excessive (Frank 1980). Ce fait, combiné à sa petite taille, indique que sa capacité à influencer les cycles des éléments nutritifs sera limitée. Les effets potentiels de la protéine fluorescente sur le métabolisme du CGT2016 et donc sur le cycle des éléments nutritifs n'ont pas été examinés. Dans un autre organisme modèle, il s'est avéré que des souris transgéniques dotées de la eGFP présentaient des modifications pour le cycle de l'urée, le métabolisme de l'acide nucléique et de l'aminoacide et l'utilisation de l'énergie (Li et al. 2013). Nous ne savons pas quels effets sur le cycle biogéochimique pourraient avoir ces modifications si les CGT2016 subissaient les mêmes influences liées à l'expression génique du transgène fluorescent, mais la petite taille du CGT2016 et l'absence de capacité de pollution du tétra noir indiquent que **dans la nature le danger pour le cycle biogéochimique est négligeable**, même en cas de modification des voies métaboliques. Ce facteur présente un **niveau d'incertitude modéré** en raison du manque d'études se penchant sur ce danger.

2.3.7 Dangers potentiels pour l'habitat

Le tétra noir est un petit poisson pour lequel rien n'indique qu'il peut influencer la structure de l'habitat. Les tétras noirs se reproduisent dans les eaux libres et ne bâtissent pas de nids ni d'autres structures pouvant avoir des répercussions sur les habitats d'autres espèces. Depuis 2012, le CGT2016 est utilisé dans le commerce d'espèces d'ornement destinées aux aquariums, et aucun cas, anecdotique ou autre, de modification du comportement pouvant influencer la structure de l'habitat n'a été relevé chez le CGT2016 par rapport au tétra noir. Par conséquent, le CGT2016 devrait avoir **des répercussions négligeables sur l'habitat, le niveau d'incertitude associé étant faible**.

2.3.8 Dangers potentiels pour la biodiversité

Selon la LCPE (1999), la « diversité biologique » (biodiversité) se définit comme la variabilité des organismes vivants de toute origine, y compris, sans limiter la généralité des éléments suivants : les écosystèmes terrestres, marins et autres écosystèmes aquatiques ainsi que les complexes écologiques dont ils font partie, ce qui comprend la diversité au sein des espèces et entre espèces ainsi que celle des écosystèmes. La biodiversité peut être négativement touchée

par de nombreux facteurs, y compris l'introduction d'espèces envahissantes et de maladies. Même si le caractère envahissant du CGT2016 n'a pas été directement évalué, il n'existe aucun cas signalé de tétra noir devenant envahissant en Amérique du Nord, en Europe ou ailleurs dans le monde. Le tétra noir est une espèce d'ornement destinée aux aquariums depuis 1950 en Amérique du Nord et c'est un animal domestique courant au Canada et aux États-Unis (p. ex., Rixon et al. 2005 ont découvert que 75 % des animaleries de l'Ontario étudiées vendaient des *G. ternetzi* et Strecker et al. 2011 ont constaté que c'était le cas de 96,7 % de celles de l'État de Washington). La présence de *G. ternetzi* dans les systèmes aquatiques naturels des États-Unis a été relevée en Floride, au Colorado et en Louisiane (Nico and Fuller 2017; Tuckett et al. 2017), mais aucune population ne s'est établie et Hill et al. (2014) ont conclu à l'aide du Fish Invasiveness Screening Kit (FISK) [outil d'évaluation du caractère envahissant des poissons] que le potentiel d'invasion du *G. ternetzi* était nul aux États-Unis. En dépit de cette utilisation à long terme de grande ampleur et de l'introduction du poisson dans l'environnement, aucun rapport n'indique que le tétra noir nuit aux écosystèmes aquatiques et à la biodiversité. Comme nous l'indiquions précédemment, le CGT2016 ne devrait pas nuire aux espèces indigènes par l'intermédiaire d'interactions trophiques ou d'hybridation, ne devrait pas jouer le rôle de vecteur pour des agents pathogènes préoccupants au Canada et ne devrait pas avoir de répercussion importante sur le cycle biogéochimique ou l'habitat. L'ajout de la construction transgénique et de la protéine fluorescente au code génétique du CGT2016 ne devrait pas entraîner de toxicité pour l'environnement ou poser des dangers en raison d'une THG, ne devrait pas augmenter la capacité du tétra noir à agir comme vecteur de maladies en raison d'interactions avec des espèces indigènes et ne devrait pas affecter le cycle biogéochimique ni l'habitat. En considérant tous ces facteurs, le **danger que représente le CGT2016 pour la biodiversité des écosystèmes canadiens est négligeable**. La dépendance à l'égard de données sur des espèces comparables (c.-à-d. l'absence de données sur le caractère envahissant et les effets sur la biodiversité du tétra noir) entraîne un **niveau d'incertitude faible**.

2.3.9 Conclusions

Le tétra noir est un petit poisson peu agressif dont le niveau d'activité devrait être limité en raison des faibles températures qui règnent la plupart du temps dans les eaux canadiennes. Il n'est pas connu comme étant vulnérable aux maladies préoccupantes au Canada et il n'a jamais présenté de caractère envahissant au Canada et dans le monde, malgré son utilisation à grande échelle. À ce titre, le tétra noir ne devrait pas représenter de danger pour l'environnement canadien. Les dangers pour l'environnement posés par le CGT2016 autres que ceux associés au tétra noir sauvage n'ont pas été spécifiquement traités. Toutefois, il n'y a aucune donnée indiquant que la construction pourrait être toxique pour l'environnement et les transgènes fluorescents de la majorité des autres organismes fluorescents étudiés n'étaient pas associés à de la toxicité. Rien n'indique aussi que des effets pourraient être causés par le transfert du transgène vers des espèces indigènes canadiennes par hybridation ou THG. Pour certains organismes fluorescents étudiés n'étant pas des poissons, des données limitées indiquent que certains transgènes fluorescents ont le potentiel de modifier la capacité à agir comme vecteur en influençant les réponses aux maladies et de modifier la contribution au cycle biogéochimique en altérant les voies métaboliques. Toutefois, aucune différence n'a été

signalée pour le CGT2016 et les autres poissons fluorescents en ce qui concerne la survie, la vulnérabilité aux maladies et l'élevage et, en conséquence, le potentiel de danger ne devrait pas changer par rapport à leur capacité à agir comme vecteur ou aux modifications de cycle biogéochimique. Certaines preuves indiquent que les interactions trophiques du CGT2016 pourraient avoir moins de répercussions sur d'autres espèces que le tétra noir, car sa tolérance au froid inférieure peut limiter ses activités dans les eaux froides et ses couleurs vives peuvent augmenter la prédation, comme signalé pour le poisson zèbre doté de la RFP (Hill et al. 2011). Un rapport sur ce dernier poisson indique que la présence de poissons fluorescents peut faire que les prédateurs mangent plus de poissons sauvages et réduire l'agressivité de ces derniers (Jha 2010), ce qui pourrait avoir des conséquences négatives sur les populations sauvages. Toutefois, il reste à découvrir si les différences étaient causées par la présence du transgène, le niveau de domestication ou l'historique d'élevage et si ces résultats s'appliquent aux habitats naturels complexes ou spécifiquement au CGT2016. Si le CGT2016 était utilisé autrement que comme poisson d'ornement d'aquarium intérieur fixe (p. ex., appât, poisson dans un étang extérieur), il ne devrait pas poser de dangers uniques en dehors de ceux associés à l'utilisation prévue.

Tous les dangers spécifiques examinés sont classés comme négligeables, à l'exception des effets des THG qui sont classés comme faibles (voir le tableau 2.5). Dans ce dernier cas, le potentiel que cela ait des effets (c.-à-d. un transfert de transgène vers des populations de procaryotes) ne peut être exclu, mais cela ne devrait pas causer d'effets nocifs à la structure ou à la fonction des écosystèmes canadiens. Le classement du niveau d'incertitude lié à chaque danger va d'un niveau négligeable à modéré (voir le tableau 2.5), en raison du caractère limité des données propres au CGT2016 et des données directes sur les espèces comparables, de la variabilité des données concernant un substitut (poisson zèbre doté de la RFP) et de la dépendance à l'égard de l'opinion des experts pour l'évaluation de certains dangers.

2.4 ÉVALUATION DU RISQUE

Le risque représente la probabilité qu'un effet nocif se produise en raison d'une exposition à un danger. L'évaluation du risque intègre la nature et la gravité des effets nocifs, la probabilité que ceux-ci se produisent et l'incertitude associée à chaque conclusion. Les conclusions de l'avis scientifique du MPO remis à ECCC et à SC pour la prise de décisions réglementaires sont fondées sur le risque global posé par l'organisme dans le contexte du scénario d'utilisation proposé par l'auteur de l'avis et de tous les autres scénarios d'utilisation potentielle.

***Tableau 2.5** : Résumé du classement des dangers et du niveau d'incertitude connexe pour le CGT2016 dans l'environnement canadien*

Danger	Niveau	Niveau d'incertitude
Danger lié à la toxicité environnementale	Négligeable	Modéré
Danger lié à la transmission horizontale de gènes	Faible	Faible
Danger lié aux interactions trophiques	Négligeable	Modéré
Danger lié à l'hybridation	Négligeable	Négligeable
Danger en tant que vecteur de maladies	Négligeable	Modéré

Danger	Niveau	Niveau d'incertitude
Danger pour le cycle biogéochimique	Négligeable	Modéré
Danger pour l'habitat	Négligeable	Faible
Danger pour la biodiversité	Négligeable	Faible

La conclusion globale concernant le risque s'appuie sur le paradigme habituel suivant : risque = danger x exposition.

Risque ∝ Niveau d'exposition × Danger

Pour chaque paramètre, le niveau de danger et d'exposition est catégorisé comme négligeable, faible, modéré ou élevé, chacun d'eux ayant été analysé et associé à un niveau d'incertitude. Le risque global est estimé en illustrant le danger par rapport à l'exposition, au moyen d'une matrice ou d'une carte des risques, comme le montre la figure 2.3. La matrice ne peut être utilisée comme outil pour tirer une conclusion ou prendre une décision par rapport au risque, mais elle permet de faciliter les communications et les discussions. L'incertitude associée au niveau du risque global n'est pas estimée, l'incertitude liée aux évaluations du risque et de l'exposition étant abordée dans le cadre de la conclusion finale sur le risque.

2.4.1 Évaluation du risque pour le CGT2016

L'évaluation de l'exposition sur le CGT2016 a conclu que celui-ci, utilisé dans le commerce de poissons d'ornement destinés aux aquariums ou d'une manière imprévue, présenterait une **faible probabilité de présence dans l'environnement canadien**. Cette faible probabilité est liée à la probabilité élevée d'introductions de petits nombres de poissons d'aquariums domestiques et à la probabilité négligeable de voir des CGT2016 survivre à l'hiver dans les écosystèmes aquatiques canadiens. À ce titre, toute exposition des écosystèmes d'eau douce canadiens au CGT2016 serait isolée, rare et éphémère. La qualité des données démontrant l'intolérance au froid du CGT2016 et de l'espèce d'origine par rapport aux températures régnant dans les eaux douces canadiennes pendant l'hiver permet d'obtenir un **faible niveau d'incertitude** pour le classement de ce danger.

L'évaluation du danger a conclu que le CGT2016 **représentait un danger négligeable à faible pour l'environnement canadien**, au vu de l'absence de dangers liés à l'espèce d'origine, le tétra noir, et de l'absence de preuve directe démontrant l'existence de dangers accrus, par rapport à ce dernier, liés à la protéine fluorescente exprimée. Le niveau d'incertitude lié à chaque paramètre de danger va d'un niveau négligeable à modéré (voir le tableau 2.5), en raison du caractère limité des données propres au CGT2016 et des données directes sur les espèces comparables, de la variabilité des données concernant un substitut (poisson zèbre RFP) et de la dépendance à l'égard de l'opinion des experts pour l'évaluation de certains dangers.

D'après la matrice des risques de la figure 2.3, le CGT2016, s'il est utilisé dans le commerce de poissons d'ornement destinés aux aquariums ou de manière imprévue au Canada, **représente un risque faible pour l'environnement canadien (exposition faible ∝ danger négligeable/faible = risque faible)**. En général, selon les évaluations du risque individuelles,

en fonction du degré d'exposition évalué, il n'y aura pas d'effets au-delà des variations naturelles attendues de l'environnement canadien. Une exception est les dangers associés à la THG qui, en fonction du degré d'exposition déterminé, peuvent entraîner des effets dépassant ces variations (p. ex., transfert potentiel d'une protéine fluorescente d'origine marine vers des procaryotes d'eau douce), mais ceux-ci ne devraient pas être nocifs.

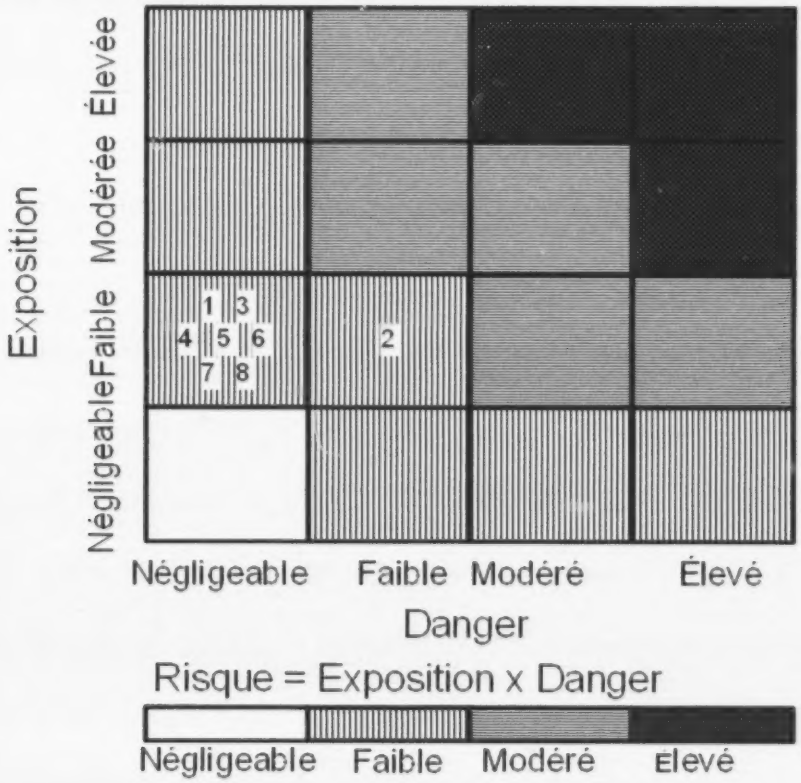

Figure 2.3 : *Matrice des risques et échelle de couleur pour illustrer comment l'exposition et le danger sont intégrés pour établir un niveau de risque dans l'évaluation du risque environnemental Les évaluations du risque associées aux composantes de danger au niveau d'exposition évalué sont désignées par des chiffres : 1) risques liés à la toxicité pour l'environnement; 2) risques liés à la transmission horizontale de gènes; 3) risques liés aux interactions avec d'autres organismes; 4) risques liés à l'hybridation; 5) risques en tant que vecteur de maladie; 6) risques pour le cycle biogéochimique; 7) risques pour l'habitat; 8) risques pour la biodiversité.*

Les sources d'incertitude dans l'évaluation de l'exposition et des dangers pour l'environnement qui peuvent influencer le niveau d'incertitude dans l'évaluation du risque environnemental comprennent l'absence de données directes sur les dangers de l'organisme déclaré et des espèces comparables, la variabilité des données tirées des substituts et les lacunes dans la compréhension de l'applicabilité de ces données à l'organisme déclaré (p. ex., interactions trophiques), ainsi qu'une certaine dépendance à l'égard de l'opinion des experts pour certaines évaluations des dangers (p. ex., répercussions liées au rôle de vecteur d'agents pathogènes). Le niveau d'incertitude associé à certains dangers individuels est important (p. ex., incertitude

modérée pour les dangers négligeables suivants : toxicité pour l'environnement, interactions trophiques, vecteur de maladies et biogéochimique). Pour la majorité des dangers posés par le CGT2016, les composantes de l'écosystème devraient y être exposées en continu pour qu'il y ait des risques importants pour l'environnement et, en conséquence, le niveau d'incertitude du risque est plus associé à l'incertitude de l'exposition qu'à celle du danger. De façon contrastante, les dangers posés par la THG ou un CGT2016 qui agit comme vecteur de maladies peuvent dépendre de l'exposition initiale de l'environnement au CGT2016 pour le transfert du transgène ou des agents pathogènes, ce qui pourrait alors avoir des conséquences à long terme sur l'environnement après l'élimination des CGT2016 se trouvant dans l'environnement. Ainsi, le niveau d'incertitude du risque associé à ces dangers peut être plus près du niveau d'incertitude lié à l'évaluation des dangers. En dépit de l'incertitude modérée associée à certains paramètres individuels d'évaluations, il n'y a rien qui indique que les niveaux globaux de risque posé par des CGT2016 utilisés aux fins commerciales au Canada peuvent être plus élevés que le niveau faible pour l'environnement canadien. Les études futures devraient viser à réduire l'incertitude de composantes clés du danger, par exemple en examinant directement l'influence des modifications génétiques sur le potentiel des répercussions environnementales en ce qui concerne la toxicité pour l'environnement, les interactions trophiques, les CGT2016 agissant comme vecteurs de maladies et le cycle biogéochimique.

2.5 RÉSUMÉ ET CONCLUSIONS

GloFish LLC a demandé une autorisation pour importer des CGT2016, espèce de tétra transgénique vert fluorescent du nom de *G. ternetzi*, pour le commerce d'espèces d'ornement destinées aux aquariums et les particuliers qui souhaitent en acheter. Les CGT2016 seraient importés au Canada à partir de quatre sites d'importation, puis seraient distribués vers les aquariums de résidences partout au Canada. Ce seraient des poissons d'ornement pour les particuliers, leur destination finale étant des aquariums de résidences.

Si de tels poissons se trouvaient dans des aquariums de résidences, ou étaient utilisés de façon imprévue, ils devraient être introduits dans l'environnement canadien fréquemment à très petite échelle, quoiqu'il ne soit pas possible d'exclure la possibilité qu'il y soit introduit de façon importante occasionnellement. Cependant, les données de grande qualité disponibles indiquent que le CGT2016 n'est pas en mesure de passer l'hiver dans les écosystèmes d'eau douce canadiens, ce qui fait que le niveau d'exposition ainsi que le niveau d'incertitude associé sont faibles. Pour les dangers potentiels, l'absence de preuve de dangers liés à l'espèce sauvage, malgré son utilisation importante à long terme, ainsi que l'absence de preuves de dangers accrus liés au CGT2016 par rapport à l'espèce sauvage, indique que le danger du CGT2016 pour l'environnement canadien est négligeable à faible. En raison de l'absence d'informations directes sur les dangers posés par l'espèce de base ou le CGT2016, le niveau d'incertitude associé aux évaluations des dangers va de négligeable à modéré. La combinaison de ces éléments fait que le risque global du CGT2016 pour l'environnement canadien est faible, et l'organisme déclaré ne devrait pas y provoquer d'effet nocif au niveau d'exposition évalué. Alors que le niveau d'incertitude associé à certains dangers est modéré en raison du caractère limité ou inexistant de données directes à propos de l'organisme déclaré ou d'une espèce

comparable, rien ne semblait indiquer que le CGT2016, dans le cadre de l'utilisation proposée ou d'autres utilisations potentielles, pouvait nuire à l'environnement canadien en cas d'exposition.

BIBLIOGRAPHIE

AC Tropical Fish. 2016. Freshwater tropical fish aquarium.

Agbulut, O., Huet, A., Niederlander, N., Puceat, M., Menasche, P., and Coirault, C. 2007. Green fluorescent protein impairs actin-myosin interactions by binding to the actin-binding site of myosin. J. Biol. Chem. 282(14): 10465-10471. doi: 10.1074/jbc.M610418200.

Amanuma, K., Nakajima, N., Hashimoto, A.H., and Aoki, Y. 2008. Genetically modified, red fluorescent zebrafish: Detection, crossing, inheritance of red fluorescence, and tolerance to low temperatures. J. Environ. Biotechnol. 8(2): 105-110.

Amiro, P.G. 2006. A synthesis of fresh water habitat requirements and status for Atlantic salmon (*Salmo salar*) in Canada. DFO Can. Sci. Advis. Sec. Res. Doc. 2006/017: 35 p.

Amsterdam, A., Lin, S., and Hopkins, N. 1995. The *Aequorea victoria* green fluorescent protein can be used as a reporter in live zebrafish embryos. Dev. Biol. 171(1): 123-129. doi: 10.1006/dbio.1995.1265.

Aqua-Fish Net. 2005. Black skirt tetra - *Gymnocorymbus ternetzi*.

Axelrod, H.R., and Vorderwinkler, W. 1976. Encyclopedia of Tropical Fishes (23 ed.). T.F.H. Publication, Inc., Neptune City. e845.

Badrian, B., and Bogoyevitch, M.A. 2007. Changes in the transcriptional profile of cardiac myocytes following green fluorescent protein expression. DNA Cell Biol. 26(10): 727-736. doi: 10.1089=dna.2007.0604.

Baens, J., Noels, H., Broeckx, V., Hagen, S., Fevery, S., Biliau, A.D., Vankelecom, H., and Marynen, P. 2006. The dark side of EGFP: Defective polyubiquitination. PLoS ONE 1(1): e54. doi: 10.1371/journal.pone.0000054.

BCLSS. 2013. Osoyoos Lake 2005-2011. British Columbia Lake Stewardship Society, Kelowna, BC. 4 pp.

BCLSS. 2014. Cowichan Lake 2004-2013. British Columbia Lake Stewardship Society. 4 pp.

Beitinger, T.L., Bennett, W.A., and McCauley, R.W. 2000. Temperature tolerances of North American freshwater fishes exposed to dynamic changes in temperature. Environ. Biol. Fish. 58: 237-275.

Benine, R.C., Melo, B.F., Castro, R.M.C., and Oliveira, C. 2015. Taxonomic revision and molecular phylogeny of *Gymnocorymbus* Eigenmann, 1908 (Teleostei, Characiformes, Charaeidae). Zootaxa 1: 1-28.

Boulenger, G.A. 1895. Abstract of a report on a large collection of fishes formed by Dr. C. Ternetz in Matto Grosso and Paraguay, with descriptions of new species. Proc. Zool. Soc. Lond. B 1895(3): 523-529.

Brigulla, M., and Wackernagel, W. 2010. Molecular aspects of gene transfer and foreign DNA acquisition in prokaryotes with regard to safety issues. Appl. Microbiol. Biotechnol. 86: 1027-1041. doi: 10.1007/s00253-010-2489-3.

Brysiewcz, A., Tanski, A., Korzelecka-Orkisz, A., and Formicki, K. 2009. Peculiarities of black tetra *Gymnocorymbus ternetzi* reproduction in waters of various hardness.

Burgman, M. 2005. Risk and decisions for conservation and environmental managers. Cambridge University Press. 504.

California Fish and Game Commission. 2015. Sales of GloFish® in California. State of California, Department of Fish and Wildlife.

Çelik, İ., Çelik, P., Cirik, Ş., Gürkan, M., and Hayretdağ, S. 2012. Embryonic and larval development of black skirt tetra (*Gymnocorymbus ternetzi*, Boulenger, 1895) under laboratory conditions. Aquacul. Res. 43(9): 1260-1275. doi: 10.1111/j.1365-2109.2011.02930.x.

Chen, C.H., Puliafito, A., Cox, B.D., Primo, L., Fang, Y., Di Talia, S., and Poss, K.D. 2016. Multicolor cell barcoding technology for long-term surveillance of epithelial regeneration in zebrafish. Dev. Cell 36(6): 668-680. doi: 10.1016/j.devcel.2016.02.017.

Cortemeglia, C., and Beitinger, T.L. 2005. Temperature tolerances of wild-type and red transgenic zebra danios. Trans. Am. Fish. Soc. 134(6): 1431-1437. doi: 10.1577/t04-197.1.

Cortemeglia, C., and Beitinger, T.L. 2006a. Projected US distributions of transgenic and wildtype zebra danios, *Danio rerio*, based on temperature tolerance data. J. Therm. Biol. 31(5): 422-428. doi: 10.1016/j.jtherbio.2006.01.011.

Cortemeglia, C., and Beitinger, T.L. 2006b. Susceptibility of transgenic and wildtype zebra danios, *Danio rerio*, to predation. Environ. Biol. Fish. 76(1): 93-100. doi: 10.1007/s10641-006-9011-x.

Coumans, J.V.F., Gau, D., Polijak, A., Wasinger, V., Roy, P., and Moens, P.R. 2014. Green fluorescent protein expression triggers proteome changes in breast cancer cells. Exp. Cell Res. 320: 33-45.

Daniel, S.N., Penitente, M., Silva, D., Hashimoto, D.T., Ferreira, D.C., Foresti, F., and Porto-Foresti, F. 2015. Organization and chromosomal distribution of histone genes and transposable rex elements in the genome of *Astyanax bockmanni* (Teleostei, Characiformes). Cytogenet. Genome Res. 146(4): 311-318. doi: 10.1159/000441613.

Devgan, V., Rao, M.R.S., and Seshagiri, P.B. 2004. Impact of embryonic expression of enhanced green fluorescent protein on early mouse development. Biochem. Biophys. Res. Commun. 313(4): 1030-1036. doi: 10.1016/j.bbrc.2003.11.184.

Devlin, R.H., Biagi, C.A., Yesaki, T.Y., Smailus, D.E., and Byatt, J.C. 2001. Growth of domesticated transgenic fish. Nature 409: 781-782.

Devlin, R.H., Sundstrom, L.F., Johnsson, J.I., Fleming, I.A., Hayes, K.R., Ojwang, W.O., Bambaradeniya, C., and Zakaria-Ismail, M. 2007. Assessing ecological effects of transgenic fish prior to entry into nature. *In* Environmental Risk Assessment of Genetically Modified Organisms, Volume 3. Methodologies for Transgenic Fish. *Edited by* A.R. Kapuscinski and K.R. Hayes and S. Li and G. Dana and E.M. Hallerman and P.J. Schei. Cabi, University of Minnesota, USA. pp. 151-187.

Devlin, R.H., Sundström, L.F., and Leggatt, R.A. 2015. Assessing ecological and evolutionary consequences of growth-accelerated genetically engineered fishes. BioScience 65(7): 685-700. doi: 10.1093/biosci/biv068.

DFO. 2006. Proceedings of the expert panel meeting on the potential risks associated with horizontal gene transfer from novel aquatic organisms. DFO Can. Sci. Advis. Sec. Proceed. Ser. 2006/036.: vi + 52 p.

DFO. 2010. Pathways of effects for finfish and shellfish aquaculture. DFO Can. Sci. Advis. Sec. Sci. Advis. Rep. 2009/071.

Dumont, P., Vachon, N., Leclerc, J., and Guibert, A. 2002. Intentional introduction of tench into Southern Quebec. *In* Alien Invaders in Canada's Waters, Wetlands, and Forests. *Edited by* R. Claudi and P. Nantel and E. Muckle-Jeffs. Canadian Forest Service, Science Branch, NRC, Ottawa. pp. 169-177.

Elliott, J.M., and Elliott, J.A. 2010. Temperature requirements of Atlantic salmon *Salmo salar*, brown trout *Salmo trutta* and Arctic charr *Salvelinus alpinus*: predicting the effects of climate change. J. Fish Biol. 77(8): 1793-1817. doi: 10.1111/j.1095-8649.2010.02762.x.

Evans, B.B., and Lester, R.J.G. 2001. Parasites of ornamental fish imported into Australia. Bull. Eur. Assoc. Fish Pathol. 21(2): 51 - 55.

Exotic Aquariums. 2009. Black skirt tetra (*Gymnocorymbus ternetzi*).

Ficklin, D.L., Barnhart, B.L., Knouft, J.H., Stewart, I.T., Maurer, E.P., S.L., L., and Whittaker, G.W. 2014. Climate change and stream temperature projections in the Columbia River basin: habitat implications of spatial variation in hydrologic drivers. Hydrol. Earth Syst. Sci. 18: 4897-4912.

Fish Care Manuals. 2012. Black Tetra Care: The Complete Guide to Caring for and Keeping Black Tetra as Pet Fish. DestinyGate. 46.

Fish Channel. 2015. Black tetra fish stats.

Frank, S. 1980. The illustrated encyclopedia of aquarium fish. Octopus, London. 351.

Frankel, J.S. 2004. Inheritance of trunk banding in the tetra (*Gymnocorymbus ternetzi* Characidae). J. Hered. 95(3): 262-264. doi: 10.1093/jhered/esh036.

Galib, S.M. 2011. Black skirt tetra, *Gymnocorymbus ternetzi* (Boulenger, 1895).

Gong, Z., Wan, H., Tay, T.L., Wang, H., Chen, M., and Yan, T. 2003. Development of transgenic fish for ornamental and bioreactor by strong expression of fluroescent proteins in the skeletal muscle. Biochem. Biophys. Res. Commun. 308: 58-63. doi: 10.1016/S0006-291X(03)01282-8.

Gonzalez, R.J., Dalton, V.M., and Patrick, M.I. 1997. Ion regulation in ion-poor acidic water by the blackskirt tetra (*Gymnocorymbus ternetzi)* a fish native to the Amazon River. Physiol. Zool. 70(4): 428-435.

Goto, H., Yang, B., Petersen, D., Pepper, K.A., Alfaro, P.A., Kohn, D.B., and Reynolds, C.P. 2003. Transduction of green fluorescent protein increased oxidative stress and enhanced sensitivity to cytotoxic drugs in neuroblastoma cell lines. Mol. Cancer Ther. 2: 911-917.

Gozlan, R.E., Britton, J.R., Cowx, I., and Copp, G.H. 2010. Current knowledge of non-native freshwater fish introductions. J. Fish Biol. 76(4): 751-786. doi: 10.1111/j.1095-8649.2010.02566.x.

Guo, J.K., Cheng, E.C., Wang, L., Swenson, E.S., Ardito, T.A., Kashgarian, M., Cantley, L.G., and Krause, D.S. 2007. The commonly used β-actin-GFP transgenic mouse strain develops a distinct type of glomerulosclerosis. Transgen. Res. 16(6): 829-834. doi: 10.1007/s11248-007-9107-x.

Herman, R.A., Song, P., and Thirumalaiswamysekhar, A. 2009. Value of eight-amino-acid matches in predicting the allergenicity status of proteins: an empirical bioinformatic investigation. Clin. Mol. Allergy 7: 9. doi: 10.1186/1476-7961-7-9.

Hill, J.E., Kapuscinski, A.R., and Pavlowich, T. 2011. Fluorescent transgenic zebra danio more vulnerable to predators than wild-type fish. Trans. Am. Fish. Soc. 140(4): 1001-1005. doi: 10.1080/00028487.2011.603980.

Hill, J.E., Lawson Jr., L.L., and Hardin, S. 2014. Assessment of the risks of transgenic fluorescent ornamental fishes to the United States using the Fish Invasiveness Screening Kit (FISK). Trans. Am. Fish. Soc. 143(3): 817-829. doi: 10.1080/00028487.2014.880741.

Hongslo, T., and Jansson, E. 2009. Health survey of aquarium fish in Swedish pet-shops. Bull. Eur. Assoc. Fish Pathol. 29(5): 163-174.

Howard, R.D., Rohrer, K., Liu, Y., and Muir, W.M. 2015. Mate competition and evolutionary outcomes in genetically modified zebrafish (*Danio rerio*). Evolution 69(5): 1143-1157. doi: 10.1111/evo.12662.

Huang, W.Y., Aramburu, J., Douglas, P.S., and Izumo, S. 2000a. Transgenic expression of green fluorescence protein can cause dilated cardiomyopathy. Nat. Med. 6(5): 482-483.

Huang, Z., Tamura, M., Sakurai, T., Chuma, S., Saito, T., and Nakatsuji, N. 2000b. In vivo transfection of testicular germ cells and transgenesis by using the mitochondrially localized jellyfish fluorescent protein gene. FEBS Lett. 487: 248-251.

Hudson, L.C., and Stewart, C.N. 2004. Effects of pollen-synthesized green fluorescent protein on pollen grain fitness. Sex. Plant Reprod. 17(1): 49-53. doi: 10.1007/s00497-004-0203-2.

Innes, W.T. 1950. Exotic Aquarium Fishes: A work of general reference. Innes Publishing Company, Philadelphia. 521.

Jensen, E.C. 2012. Use of fluorescent probes: their effect on cell biology and limitations. Anat. Rec. 295: 2031-2036.

Jha, P. 2010. Comparative study of aggressive behaviour in transgenic and wildtype zebrafish *Danio rerio* (Hamilton) and the flying barb *Esomus danricus* (Hamilton), and their susceptibility to predation by the snakehead *Channa striatus* (Bloch). Ital. J. Zool. 77(1): 102-109. doi: 10.1080/11250000802629463.

Jhingan, E., Devlin, R.H., and Iwama, G.K. 2003. Disease resistance, stress response and effects of triploidy in growth hormone transgenic coho salmon. J. Fish Biol. 63: 806-823. doi: 10.1046/j.1095-8649.2003.00194.x.

Jobling, M. 1981. Temperature tolerance and the final preferendum--rapid methods for the assessment of optimum growth temperatures. J. Fish Biol. 19: 439-455.

Jones, R. 2016. Tetra fish.

Kam, W.W., Middleton, R., Lake, V., and Banati, R.B. 2013. Green fluorescent protein alters the transcriptional regulation of human mitochondrial genes after gamma irradiation. J. Fluoresc. 23(4): 613-619. doi: 10.1007/s10895-013-1206-x.

Kapuscinski, A.R., Hayes, K.R., Li, S., and Dana, G. 2007. Environmental Risk Assessment of Genetically Modified Organisms. Methedologies for Transgenic Fish Vol. 3. CABI publishing. 304.

Kerr, S.J., Brousseau, C.S., and Muschett, M. 2005. Invasive aquatic species in Ontario. Fisheries 30(7): 21-30. doi: 10.1577/1548-8446(2005)30[21:iasio]2.0.co;2.

Kim, J.-H., Hayward, C.J., Joh, S.-J., and Heo, G.-J. 2002. Parasitic infections in live freshwater tropical fishes imported to Korea. Dis. Aquat. Org. 52: 169-173.

Kimmel, C.B., Ballard, W.W., Kimmel, S.R., Ullmann, B., and Schilling, T.F. 1995. Stages of embryonic development of the zebrafish. Dev. Dyn. 203: 253-310.

Koelsch, K.A., Wang, Y., Maier-Moore, J.S., Sawalha, A.H., and Wren, J.D. 2013. GFP affects human T cell activation and cytokine production following *in vitro* stimulation. PLoS ONE 8(4): e50068. doi: 10.1371/journal.pone.0050068.

Koike, M., Yutoku, Y., and Koike, A. 2013. Ku80 attentuates cytotoxicity induced by green fluorescent protein transduction independently of non-homologous end joining. FEBS Open Bio 3: 46-50. doi: 10.1016/j.fob.2012.12.001.

Kraemer, B.M., Orlane, A., Sudeep, C., Margaret, D., Esko, K., Livingstone, D.M., ARimmer, A., Schaladow, S.G., Silow, E., Sitoki, L.M., Tamatamah, R., Vadeboncoeur, Y., and McIntyre, P.B. 2015. Morphometry and average temperature affect lake stratification responses to climate change. Geophys. Res. Lett. 42: 4981-4988.

Kuraku, S., Qiu, H., and Meyer, A. 2012. Horizontal transfers of Tc1 elements between teleost fishes and their vertebrate parasites, lampreys. Genome Biol. Evol. 4(9): 929-936. doi: 10.1093/gbe/evs069.

Leggatt, R.A., and Devlin, R.H. 2006. Possibility of establishment of exotic transgenic fish species in Canadian waters. Internal report for Fisheries and Oceans Canada, Biotechnology and Genomics Program. pp. 1-28.

Leggatt, R.A., Dhillion, R.S., Mimeault, C., Johnson, N., Richards, J.G., and Devlin, R.H. 2018. Low-temperature tolerances of tropical fish with potential transgenic applications in relation to winter water temperatures in Canada. Can. J. Zool. 96: 253-260.

Leggatt, R.A., O'Reilly, P.T., Blanchfield, P.J., McKindsey, C.W., and Devlin, R.H. 2010. Pathway of effects of escaped aquaculture organisms or their reproductive material on natural ecosystems in Canada. DFO Can. Sci. Advis. Sec. Res. Doc. 2010/019. vi + 70 pp.

Levin, S.A. 2009. Princeton Guide to Ecology. Princeton University Press, Princeton, NJ. 848.

Li, H.-S., Jan, M.-S., Chou, C.-K., Chen, P.-H., and Ke, N.-J. 1999. Is green fluorescent protein toxic to the living cells? Biochem. Biophys. Res. Commun. 260: 712-717.

Li, H., Wei, H., Wang, Y., Tang, H., and Wang, Y. 2013. Enhanced green fluorescent protein transgenic expression *in vivo* is not biologically inert. J. Proteome Res. 12(8): 3801-3808. doi: 10.1021/pr400567g.

Lim, E. 2008. Black widow tetra.

Lin, C.Y., Chiang, C.Y., and Tsai, H.J. 2016. Zebrafish and medaka: new model organisms for modern biomedical research. J. Biomed. Sci. 23. doi: 10.1186/s12929-016-0236-5.

Lincoln, R.G., Boxshall, G., and Clark, P. 1988. A dictionary of ecology, evolution and systematics. 2nd ed. Cambridge University Press. 371.

Luna, S.M., and Reyes, R.B. 2016. *Gymnocorymbus ternetzi* (Boulenger, 1985), Black tetra.

Magnuson, J.J., Crowder, L.B., and Medvick, P.A. 1979. Temperature as an ecological resource. Amer. Zool. 19(1): 331-343.

Mair, G.C., Nam, Y.K., and Solar, I.I. 2007. Risk management: reducing risk through confinement of transgenic fish. *In* Environmental Risk Assessment of Genetically Modified Organisms. Methodologies for Transgenic Fish. *Edited by* A.R. Kapuscinski and K.R. Hayes and S. Li and G. Dana. CABI Publishing. pp. 209-238.

Mak, G.W.-Y., Wong, C.-H., and Tsui, S.K.-W. 2007. Green fluorescent protein induces the secretion of inflammatory cytokine interleukin-6 in muscle cells. Anal. Biochem. 362: 296-298.

Marson, D., Cudmore, B., Drake, D.A.R., and Mandrak, N.E. 2009. Summary of a survey of aquarium owners in Canada. Can. Manuscr. Rep. Fish. Aquat. Sci. 2905: iv + 20 p.

May, R.C. 1974. Larval mortality in marine fishes and the critical period concept. *In* The Early Life History of Fish. The Proceedings of an International Symposium Held at the Dunstaffnage Marine Research Laboratory of the Scottish Marine Biological Association at Oban, Scotland, from May 17–23, 1973. *Edited by* J.H.S. Blaxter. Springer Berlin Heidelberg, Oban, Scotland. pp. 3-19.

Mayhood, D.M. 1995. The fishes of the Central Canadian Rockies ecosystem. Freshwater Research Limited. 950408, Calgary, AB. p. 59 pp.

Mazzoni, T.S., Grier, H.J., and Quagio-Grassiotto, I. 2015. The basement membrane and the sex establishment in the juvenile hermaphroditism during gonadal differentiation of the *Gymnocorymbus ternetzi* (Teleostei: Characiformes: Characidae). Anat. Rec. 298(12): 1984-2010. doi: 10.1002/ar.23270.

Meschiatti, A.J., Arcifa, M.S., and Fenerich-Verani, N. 2000. Fish communities associated with macrophytes in Brazilian floodplain lakes. Environ. Biol. Fish. 58: 133-143.

Mills, D.L., and Vevres, G. 1982. The Tetra Encyclopedia of Freshwater Tropical Aquarium Fishes. Tetra Press, Blacksburg, VA.

Missaghi, S., Hondzo, M., and Herb, W. 2017. Prediction of lake water temperature, dissolved oxygen, and fish habitat under changing climat. Clim. Change 141: 747-757.

Moon, D.C., Moon, J., and Keagy, A. 2010. Direct and indirect interactions. Nat. Edu. Know. 3(10): 50.

Mountain Research Initiative EDW Working Group. 2015. Elevation-dependent warming in mountain regions of the world. Nat. Clim. Change 5: 424-430. doi: 10.1038/nclimate2563.

Mutoji, K.N., and Ennis, D.G. 2012. Expression of common fluorescent reporters may modulate virulence for Mycobacterium marinum: dramatic attenuation results from Gfp over-expression. Comp. Biochem. Physiol. C Toxicol. Pharmacol. 155(1): 39-48. doi: 10.1016/j.cbpc.2011.05.011.

Nico, L., and Fuller, P. 2017. *Gymnocorymbus ternetzi* (Boulenger, 1895): U.S. Geological Survey, Nonindigenous Aquatic Species Database Gainseville, FL,. Revision Date: 1/31/2005, Access Date: 7/26/2017. 2017(February).

Oliveira, C., Avelino, G.S., Abe, K.T., Mariguela, T.C., Benine, R.C., Orti, G., Vari, R.P., and Corrêa e Castro, R.M. 2011. Phylogenetic relationships within the speciose family Characidae (Teleostei: Ostariophysi: Characiformes) based on multilocus analysis and extensive ingroup sampling. BMC Evol. Biol. 11: 275.

Oliveira, S. 2014. Canadian pet market outlook, 2014. Consumer Corner 28: 1-4.

Owen, M.A., Rohrer, K., and Howard, R.D. 2012. Mate choice for a novel male phenotype in zebrafish, *Danio rerio*. Anim. Behav. 83(3): 811-820. doi: 10.1016/j.anbehav.2011.12.029.

Pan, X., Zhan, H., and Gong, Z. 2008. Ornamental expression of red fluorescent protein in transgenic founders of white skirt tetra (*Gymnocorymbus ternetzi*). Mar. Biotechnol. 10(5): 497-501. doi: 10.1007/s10126-008-9094-9.

Peccoud, J., Loiseau, V., Cordaux, R., and Gilbert, C. 2017. Massive horizontal transfer of transposable elements in insects. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 114(18): 4721-4726. doi: 10.1073/pnas.1621178114.

Priestley, S.M., Stevenson, A.E., and Alexander, L.G. 2006. Growth rate and body condition in relation to group size in black widow tetras (*Gymnocorymbus ternetzi*) and common goldfish (*Carassius auratus*). J. Nutr. 136: 2078S-2080S.

Rees, H.C., Maddison, B.C., Middleditch, D.J., Patmore, J.R.M., Gough, K.C., and Crispo, E. 2014. REVIEW: The detection of aquatic animal species using environmental DNA - a review of eDNA as a survey tool in ecology. J. Appl. Ecol. 51(5): 1450-1459. doi: 10.1111/1365-2664.12306.

Řehulka, J., Kaustová, J., and Řehulková, E. 2006. Causal agents of mycobacterial diseases in freshwater ornamental fish and their importance for human health in the Czech Republic. Acta Vet. Brno 75: 251-258.

Richards, H.A., Han, C.T., Hopkins, R.G., Failla, M.L., Ward, W.W., and Stewart, C.N. 2003. Safety assessment of recombinant green fluorescent protein orally administered to weaned rats. J. Nutr. 133(6): 1909-1912.

Rixon, C.A.M., Duggan, I.C., Bergeron, N.M.N., Ricciardi, A., and Macisaac, H.J. 2005. Invasion risks posed by the aquarium trade and live fish markets on the Laurentian Great Lakes. Biodivers. Conserv. 14(6): 1365-1381. doi: 10.1007/s10531-004-9663-9.

Rose, S., Hill, R., Bermudez, L.E., and Miller-Morgan, T. 2013. Imported ornamental fish are colonized with antibiotic-resistant bacteria. J. Fish Dis. 36(6): 533-542. doi: 10.1111/jfd.12044.

Rothen, D.E., Curtis, E.W., and Yanong, R.P.E. 2002. Tolerance of yolk sac and free-swimming fry of the zebra *Danio Brachydanio rerio*, black tetra *Gymnocorymbus ternetzi*, Buenos Aires tetra *Hemigrammus caudovittatus*, and Blue Gourami *Trichogaster trichopterusto* therapeutic doses of formalin and sodium chloride. J. Aquat. Anim. Health. 14(3): 204-208. doi: 10.1577/1548-8667(2002)014<0204:toysaf>2.0.co;2.

Sakharova, N.Y., Smirnov, A.A., Mezhevikina, L.M., Fialkovskaya, L.A., and Stasenko, D.V. 2011. Comparative estimation of the EGFP effects on the development of embryos obtained by reciprocal crossing of C57BL/6-Tgn(ACTbEGFP)1Osb/J and C57BL/6 mice. Russ. J. Genet. 47(6): 726-731. doi: 10.1134/s1022795411050139.

Sakurai, A., Sakamato, Y., and Mori, F. 1992. Aquarium Fish of the World. Chronicle Books, San Francisco.

Santiago, J.M., Muñoz-Mas, R., Solana, J., García de Jalón, D., and Alonso, C. 2017. Waning habitats due to climate change: effects of streamflow and temperature changes at the rear edge of the distribution of a coldwater fish. Hydrol. Earth Syst. Sci. 21: 4073-4101.

Sarma, S.S.S., Lopez-Romulo, J.A., and Nandini, S. 2003. Larval feeding hebaviour of blind fish *Astyanax fasciatus* (Characidae), black tetra *Gymnocorymbus ternetzi* (Characidae) and angel fish *Pterophyllum scalare* (Cichlidae) fed zooplankton. Hydrobiologia 510: 207-216.

Schaefer, J., and Ryan, A. 2006. Developmental plasticity in the thermal tolerance of zebrafish *Danio rerio*. J. Fish Biol. 69(3): 722-734. doi: 10.1111/j.1095-8649.2006.01145.x.

Schemberger, M.O., Nogaroto, V., Almeida, M.C., Artoni, R.F., Valente, G.T., Martins, C., Moreira, O., Cestari, M.M., and Vicari, M.R. 2016. Sequence analyses and chromosomal distribution of the Tc1/Mariner element in Parodontidae fish (Teleostei: Characiformes). Gene 593(2): 308-314. doi: 10.1016/j.gene.2016.08.034.

Scheurmann, I. 1990. Aquarium Fish Breeding. Barron's Educational Series, Inc. 139.

Seif, S., Kazemi, F., Gholami, E., Seyed, N., Taslimi, Y., Habibzadeh, S., Azarian, B., Jamshidi, S., Hashemi, M., Rafati, S., and Taheri, T. 2016. EGFP reporter protein: its immunogenicity in Leishmania-infected BALB/c mice. Appl. Microbiol. Biotechnol. 100(9): 3923-3934. doi: 10.1007/s00253-015-7201-1.

Seriously Fish. 2016.

Sharpe, S. 2016. Black widow tetra - *Gymnocorymbus ternetzi*.

Shimomura, O. 1979. Structure of the chromophore of *Aequorea* green fluorescent protein. FEBS Lett. 104(2): 220-222.

Snekser, J.L., McRobert, S.P., Murphy, C.E., and Clotfelter, E.D. 2006. Aggregation behavour in wildtype and transgenic zebrafish. Ethology 112: 181-187.

Sparks, J.S., Schelly, R.C., Smith, W.L., Davis, M.P., Tchernov, D., Pieribone, V.A., and Gruber, D.F. 2014. The covert world of fish biofluorescence: a phylogenetically widespread and phenotypically variable phenomenon. PLoS ONE 9(1): e83259. doi: 10.1371/journal.pone.0083259.

Stewart, C.N. 2001. The utility of green fluorescent protein in transgenic plants. Plant Cell Rep. 20(5): 376-382.

Stewart, C.N. 2006. Go with the glow: fluorescent proteins to light transgenic organisms. Trends Biotechnol. 24(4): 155-162.

Strecker, A.L., Campbell, P.M., and Olden, J.D. 2011. The aquarium trade as an invasion pathway in the Pacific Northwest. Fisheries 36(2): 74-85. doi: 10.1577/03632415.2011.10389070.

Sultana, T., Zamborlini, A., Cristofari, G., and Lesage, P. 2017. Integration site selection by retroviruses and transposable elements in eukaryotes. Nature Rev. Genet. 18(5): 292-308. doi: 10.1038/nrg.2017.7.

Sundström, L.F., Lõhmus, M., Tymchuk, W.E., and Devlin, R.H. 2007. Gene-environment interactions influence ecological consequences of transgenic animals. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 104(10): 3889-3894. doi: 10.1073/pnas.0608767104.

Sutter, G.W.I. 1990. Endpoints for regional ecological risk assessments. Environ. Manage. 14(1): 9-23.

Tao, W., Evans, B.G., Yao, J., Cooper, S., Cornetta, K., Ballas, C.B., Hangoc, G., and Broxmeyer, H.E. 2007. Enhanced green fluorescent protein is a nearly ideal long-term expression tracer for hematopoietic stem cells, whereas DsRed-Express fluorescent protein is not. Stem Cells 25(3): 670-678. doi: 10.1634/stemcells.2006-0553.

Teletchea, F. 2016. Domestication level of the most popular aquarium fish species: is the aquarium trade dependent on wild populations? CYBIUM 40(1): 21-29.

Thomas, C.M., and Nielsen, K.M. 2005. Mechanisms of, and barriers to, horizontal gene transfer between bacteria. Nat. Rev. Microbiol. 3(9): 711-721. doi: 10.1038/nrmicro1234.

Thomas, J., Schaack, S., and Pritham, E.J. 2010. Pervasive horizontal transfer of rolling-circle transposons among animals. Genome Biol. Evol. 2: 656-664. doi: 10.1093/gbe/evq050.

Trumpickas, J., Shuter, B.J., Minns, C.K., and Cyr, H. 2015. Characterizing patterns of nearshore water temperature variation in the North American Great Lakes and assessing sensitivities to climate change. J. Great Lakes Res. 41: 53-64.

Tuckett, Q.M., Ritch, J.L., Lawson, K.M., and Hill, J.E. 2017. Landscape-scale survey of non-native fishes near ornamental aquaculture facilities in Florida, USA. Biol. Invasions 19: 223-237. doi: 10.1007/s10530-016-1275-2.

Turner, C.R., Uy, K.L., and Everhart, R.C. 2015. Fish environmental DNA is more concentrated in aquatic sediments than surface water. Biol. Cons. 183: 93-102. doi: 10.1016/j.biocon.2014.11.017.

U. S. EPA. 1998. Guidelines for ecological risk assessment, Washington, DC. pp. 26846-26924.

Udvadia, A.J., and Linney, E. 2003. Windows into development: historic, current, and future perspectives on transgenic zebrafish. Dev. Biol. 256(1): 1-17. doi: 10.1016/s0012-1606(02)00083-0.

Uh, M., Khattra, J., and Devlin, R.H. 2006. Transgene constructs in coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) are repeated in a head-to-tail fashion and can be integrated adjacent to horizontally-transmitted parasite DNA. Transgen. Res. 15(6): 711-727. doi: 10.1007/s11248-006-9016-4.

Uma, B., and Chandran, M.R. 2008. Induction of triploidy in *Gymnocorymbus ternetzi* (Boulenger). Res. J. Fish. Hydrobiol. 3(2): 41-47.

Villuendas, G., Gutiérrez-Adán, A., Jiménez, A., Rojo, C., Roldán, E.R., and Pintado, B. 2001. CMV-driven expression of green fuorescent protein (GFP) in male germ cells of transgenic mice and its effect on fertility. Int. J. Androl. 24: 300-305.

Welcomme, R.L. 1992. A history of international introductions of inland aquatic species. ICES Mar. Sci. Symp. 194: 3-14.

Whittington, R.J., and Chong, R. 2007. Global trade in ornamental fish from an Australian perspective: The case for revised import risk analysis and management strategies. Prev. Vet. Med. 81(1-3): 92-116. doi: 10.1016/j.prevetmed.2007.04.007.

Wolt, J.D., Keese, P., Raybould, A., Fitzpatrick, J.W., Burachik, M., Gray, A., Olin, S.S., Schiemann, J., Sears, M., and Wu, F. 2010. Problem formulation in the environmental risk assessment for genetically modified plants. Transgen. Res. 19(3): 425-436. doi: 10.1007/s11248-009-9321-9.

Yano, C.F., Bertollo, L.A.C., Liehr, T., Troy, W.P., and Cioffi, M.D. 2016. W chromosome dynamics in triportheus species (Characiformes, Triportheidae): an ongoing process narrated by repetitive sequences. J. Hered. 107(4): 342-348. doi: 10.1093/jhered/esw021.